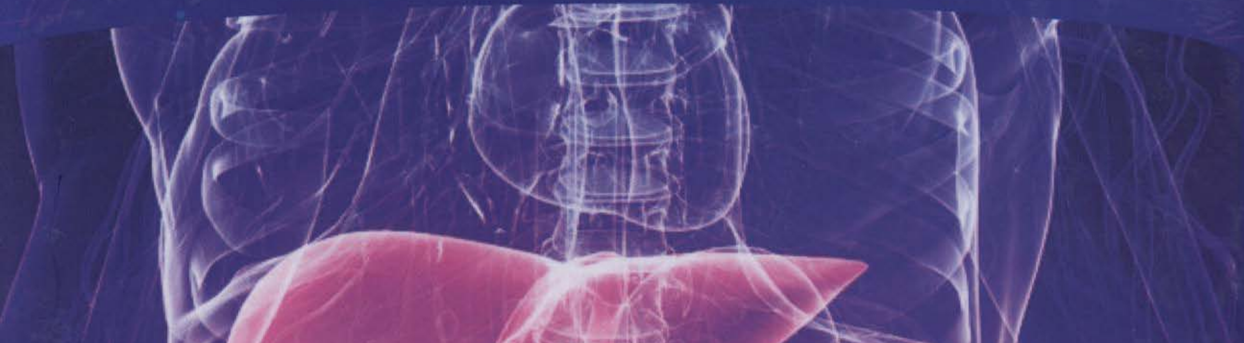
616.36
B13

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII al REPUBLICII MOLDOVA
UNIVERSITATEA de STAT de MEDICINĂ şi FARMACIE „NICOLAE TESTEMIȚANU"

BACINSCHI Nicolae



# HEPATOPROTECTOARE ENTOMOLOGICE

616.36
Б16

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII al REPUBLICII MOLDOVA
UNIVERSITATEA de STAT de MEDICINĂ și FARMACIE „NICOLAE TESTEMIȚANU"

**Bacinschi Nicolae**

# HEPATOPROTECTOARE ENTOMOLOGICE

713553

Universitatea de Stat de
Medicină și Farmacie
«Nicolae Testemițanu»
Biblioteca Științifică Medicală

SL3

Centrul Editorial-Poligrafic *Medicina*
Chișinău, 2012

CZU 616.36-08:615.244
B 13

Aprobat de Consiliul de experţi
al Ministerului Sănătăţii al Republicii Moldova
(*proces verbal nr. 1 din din 29 martie 2012*)

Autor:
**Nicolae Bacinschi** – dr.med., conferenţiar universitar,
Catedra farmacologie şi farmacologie clinică

Recenzenţi:
Vlada-Tatiana Dumbrava – dr.hab.med., profesor universitar,
şefa Catedrei medicină internă nr.4
Veaceslav Gonciar – dr.hab.med., profesor universitar,
şeful Catedrei farmacologie şi farmacie clinică

Redactor: Silvia Donici

Machetare computerizată: Natalia Berebiuc

Monografia este destinată medicilor farmacologi şi farmacologi clinicieni, medicilor internişti, hepatologi, infecţionişti, medicilor de familie, rezidenţilor şi studenţilor universităţii de medicină.

**DESCRIEREA CIP A CAMEREI NAŢIONALE A CĂRŢII**

**Bacinschi, Nicolae.**
Hepatoprotectoare entomologice / Nicolae Bacinschi; Univ. de Stat de Medicină şi Farmacie "Nicolae Testemiţanu". – Ch.: Lexon-Prim, 2012 (Tipogr. "Reclama"). – 312 p.
150 ex.
ISBN 978-9975-4333-8-9.

ISBN 978-9975-4333-8-9.

© CEP Medicina, 2012
© Nicolae Bacinschi, 2012

# CUPRINS

Cuvânt înainte ........................................ 4

**Capitolul I. Afecțiunile medicamentoase și toxice ale ficatului** .................. 5

1.1 Afecțiunile medicamentoase ale ficatului .................. 5

1.2 Afecțiunile toxice ale ficatului .................. 46

1.2.1 Hepatotoxicitatea paracetamolului .................. 46

1.2.2 Hepatotoxicitatea tetraclorurii de carbon .................. 63

**Capitolul II. Hepatoprotectoarele și rolul lor în profilaxia și tratamentul complex al afecțiunilor ficatului** .................. 85

**Capitolul III. Preparatele entomologice în prevenirea și evoluția afecțiunilor hepatice** .................. 157

3.1 Preparatele entomologice în prevenirea și evoluția afecțiunilor toxice ale ficatului .................. 157

3.1.1 Pretratamentul cu preparate entomologice a afecțiunilor toxice ale ficatului .................. 157

3.1.2 Tratamentul cu preparate entomologice a afecțiunilor toxice ale ficatului .................. 205

3.2 Preparatele entomologice în prevenirea și evoluția afecțiunii ischemice ale ficatului .................. 229

**Capitolul IV. Eficacitatea preparatelor entomologice în tratamentul complex al hepatitelor** .................. 273

4.1 Particularitățile tratamentului complex al hepatitelor virale cronice .................. 274

4.2 Particularitățile tratamentului complex al hepatitelor de diferită geneză .................. 281

**Capitolul V. Hepatoprotectoare entomologice – abordări și sugestii** .................. 297

Резюме .................. 311

Summary .................. 312

# CUVÂNT ÎNAINTE

Maladii de diferită geneză afectează o parte considerabilă a populaţiei cu o incidenţă variată în funcţie de zonele geografice, dezvoltarea economică şi factorii predispozanţi. Progresele în hepatologie au determinat în mare măsură elucidarea etiopatogenezei afecţiunilor hepatice, ceea ce a deschis perspective importante în farmacoterapia acestora prin utilizarea medicamentelor cu influenţă asupra etiologiei şi mecanismelor de dezvoltare. În terapia patogenetică se utilizează hepatoprotectoarele, o grupă heterogenă de preparate după provenienţă şi mecanismele de acţiune. Actualmente, în baza unor cerinţe unificate înaintate faţă de aceste medicamente şi a medicinii bazate pe dovezi, s-au poziţionat în mare parte apartenenţa de grupă şi locul lor în terapia afecţiunilor hepatice. Experienţa, acumulată pe parcursul a zeci şi sute de ani, şi perfecţionarea metodelor de cercetare a remediilor hepatoprotectoare au contribuit la obţinerea unor argumente importante de utilizare raţională a acestora, precum şi au deschis noi orizonturi de cercetare a compuşilor de diferită provenienţă, inclusiv entomologică.

Insectele, ca unele din cele mai numeroase vietăţi ale Terrei, au atras atenţia cercetătorilor prin metamorfoza variată şi capacitatea de a supravieţui în condiţiile schimbătoare ale mediului, inclusiv şi în lupta cu diferiţi agenţi patogeni (bacterii, protozoare, fungi, virusuri). La ora actuală se consideră că produsele obţinute din insecte pot manifesta acţiune antimicrobiană, antifungică, antivirală, antitumorală, antiinflamatoare, antioxidantă, hepatoprotectoare etc. Din ţesuturile insectelor au fost extrasi un şir de compuşi cu o gamă variată de efecte, iar în baza lor s-au obţinut derivaţi sintetici, utilizaţi în calitate de medicamente (aloferon, alostatina etc.).

În cadrul USMF „Nicolae Testemiţanu", la catedra farmacologie şi farmacologie clinică, sub egida profesorului universitar V.Ghicavîi, timp de un deceniu se efectuează studii experimentale şi clinice ale produselor obţinute din ţesuturile de insecte, din ordinul *Lepidoptera*, genul *Lymantria* (ouă, pupe, larve) în calitate de preparate hepatoprotectoare, imunomodulatoare, antioxidante şi antiinflamatoare. În baza cercetărilor preclinice şi clinice au fost înregistrate şi puse pe piaţa farmaceutică preparatele imupurin, imuheptin şi adenoprusin. În prezenta lucrare se vor estima rezultatele experimentale şi clinice ale imuheptinului, imupurinului şi entoheptinului în calitate de hepatoprotectoare. Pe modele experimentale toxice şi ischemice de afecţiuni hepatice, prin utilizarea parametrilor adecvaţi (fiziologici, biochimici şi morfologici) s-au obţinut în premieră date relevante despre preîntâmpinarea dezvoltării şi corecţia evoluţiei leziunilor hepatice. Rezultatele cercetărilor experimentale au servit drept bază importantă pentru efectuarea studiilor clinice în scopul determinării eficacităţii preparatelor entomologice la pacienţii cu hepatite cronice de diferită geneză (virală, toxică). Considerăm că studiile în acest domeniu sunt de perspectivă, iar rezultatele relatate vor fi binevenite pentru studenţi, rezidenţi şi medici din diferite domenii (internişti, infecţionişti, farmacologi, clinicieni).

# Capitolul I
# AFECŢIUNILE MEDICAMENTOASE ŞI TOXICE ALE FICATULUI

Printre factorii etiologici ai maladiilor hepatice se pot distinge:

1) agenţii infecţioşi – virusurile, protozoarele, helminţii, bacteriile, fungile;

2) substanţele toxice - toxicele industriale (hidrocarburile aromatice, compuşii clorului şi fosforului, etanolul şi derivaţii lui, fenolii, compuşii organofosforici, sărurile metalelor grele etc.); toxicele vegetale (mătrăguna, Amanita etc.); medicamentele (anestezicele generale, hipnoticele, antipsihoticele, analgezicele neopioide, antibioticele, sulfamidele, antituberculoasele, antihipertensivele, antiepilepticele etc.);

3) factorii fizici – radiaţia, traumele;

4) factorii alimentari – excesul de lipide animaliere; deficitul factorilor lipotropi şi proteinelor etc.;

5) dereglările fluxului hepatic - locale (tromboza arterei hepatice, venei portă, ciroza hepatică) şi sistemice (insuficienţa cardiacă cronică congestivă);

6) maladiile somatice – endocrine (diabetul zaharat, hipotiroidismul), metabolice (dislipidemiile, sindromul metabolic), digestive etc.;

7) tumorile (primare sau metastatice);

8) defecte congenitale – anomalii de dezvoltare a ficatului (cavernomatoza venei portă), dereglări ale metabolismului (glicogenozele), enzimopatiile congenitale;

9) procesele autoimune.

Un compartiment important îl constituie maladiile ficatului cauzate de medicamente şi substanţele toxice.

## 1.1 Afecţiunile medicamentoase ale ficatului

Medicamentele, asigurând efectul terapeutic, pot concomitent să provoace reacţii adverse în urma supradozării absolute sau relative, acţiunii toxice directe, efectelor secundare, reacţiilor de hipepsensibilizare (alergice, non-alergice (psihogene)) cu afectări sistemice sau ale anumitor organe, inclusiv şi a ficatului. Hepatotoxicitatea medicamentelor reprezintă o problemă importantă pentru studiile preclinice, clinice şi postmarketing. Afecţiunile medicamentoase ale ficatului (AMF) constituie o problemă a sănătăţii publice şi medicinei ca urmare a manifestărilor subclinice şi clinice nespecifice, dificultăţilor diagnosticului precoce, elucidării factorului etiologic, nivelului insuficient de informare şi de cultură a pacientului, studiilor epidemiologice insuficiente etc.

Arsenalul în creştere de medicamente, de substanţe biologic active, de suplimente alimentare şi de fitopreparate contribuie la o majorare necontrolată a hepatopatiilor, iar incidenţa lor în creştere, posibil, constituie doar partea vizibilă a „aisbergului" problemei în cauză. În mare parte maladiile ficatului, clasificate ca de geneză necunoscută sau criptogene, de facto sunt cauzate de medicamente, substanţe biologic active, fitopreparate sau asocierile lor.

Intoxicaţiile medicamentoase ocazionale atrag atenţia prin formele intrahepatice de colestază, îndeosebi la vârstnici, în forme grave cu prognostic nefavorabil. Concomitent au devenit mai frecvente cazurile de hepatite acute de geneză medicamentoasă-virală şi medicamentoasă-alcoolică (Хазанов А.И. и др., 2009).

În ultimul timp a crescut numărul AMF uşoare, îndeosebi la vârstnici, cu o majorare neînsemnată a activităţii transaminazelor şi/sau a nivelului bilirubinei, uneori preponderent a fracţiei neconjugate (Хазанов А.И. и др., 2009).

**Epidemiologia afecţiunilor medicamentoase ale ficatului.** În ţările economic dezvoltate AMF ocupă un loc considerabil în structura morbidităţii şi mortalităţii populaţiei. Din milioanele de substanţe chimice cunoscute se utilizează peste 63000 dintre care 55000 ca medicamente ce prezintă pericol pentru om. Anual peste 1 mln de persoane suferă de efectele adverse ale farmacoterapiei, dintre care 180000 decedează,ceea ce aduce un prejudiciu economic de 136 mln. dolari. Frecvenţa AMF nu este cunoscută, dar se estimează de la 0,1 până la 13,9 la 100000 populaţie. Mai frecvent aceasta se determină în baza informaţiilor separate deoarece nu există studii farmacoepidemiologice ample sub acest aspect (Dumbrava V.T. şi coaut., 2004, 2010, Uetrecht J., 2009, Russmann S. et al. 2009, Kshirsagar A.et al., 2009, Cosgrove B.D. et al., 2010, Roth R.A., Ganey P.E., 2010, Пентюк А.А идр., 2001, Бабак О.Я., 2008, Буеверов А.О., 2008, Швец Н.И., Бенца Т.М., 2009, Яковенко Э.П. и др., 2009, Ковтун А.В. и др., 2011).

Hepatotoxicitatea medicamentelor este una din cauzele morbidităţii şi mortalităţii, precum şi unul din factorii principali de creştere a incidenţei insuficienţei hepatice şi a decesului (de exemplu, la halotan până la 50%). Se estimează că AMF sunt responsabile de circa 5% din spitalizări şi 50% din leziunile acute ale ficatului (Dumbrava V.T. şi coaut., 2004, 2010, Kshirdagar A.et al., 2009).

Cercetătorii americani şi europeni remarcă că din pacienţii spitalizaţi AMF au ca factori cauzali: icterul – la 2-5%, hepatita – de la 1 la 28%, iar la bolnavii peste 40 ani – circa 40%; insuficienţa hepatică fulminantă – 13-30% (SUA – 15%, Europa - 15-20%, Japonia – 10%, Rusia – 5-10%) din cazuri (51, 7, Степанов Ю.М. и др., 2005, Ключарева А.А., 2007, Бабак О.Я., 2008, Полунина Т.Е., Маев И.В., 2008, Скрыпник И.Н., 2008, 2009, Калачнюк Т.Н., 2011) În Japonia incidenţa AMF a crescut de 11 ori în ultimele 3 decenii (Буеверов А.О., 2008). Conform datelor literaturii mondiale, în structura maladiilor acute şi cronice ale ficatului AMF constituie de la 0,7 până la 20% (Ковтун А.В. и др., 2011). În SUA circa 50% din cazurile de insuficenţă hepatică acută sunt determinate de medicamente, dintre care 39% de paracetamol, iar 13% - de tip idiosincrazic. De rând cu paracetamolul, în insuficienţa hepatică acută sunt incriminate preparatele antituberculoase, unele antibiotice, anestezicele generale (halotan) şi antiinflamatoarele nesteroidiene.

Medicamentele, în 15% din cazuri sunt responsabile de transaplantul hepatic din cauza insuficienţei hepatice acute, iar în SUA acetaminofenului în revin 49%, după care urmează izoniazida – 17,5%, propiltiouracilul – 9,5%, fenitoina şi acidul valproic – 7,3% (Uetrecht J., 2009, David S., Hamilton J.A.,2010).

Afecţiunile medicamentoase ale ficatului sunt cea mai frecventă bază pentru întreruperea trialurilor clinice, refuzul aprobării de FDA, restricţie pentru administrare şi de retragere postmarketing. În SUA au fost respinse pentru înregistrare, din cauza hepatotoxicităţii, aşa medicamente ca – pemolina, nefozadona, troglitazonul, bromfenacul, benaxoprofenul, acidul tienilic, iproniazida. În timpul apropiat, hepatotoxicitatea, posibil, va determina retragerea trovafloxacinei, tolcaponului, felbamatului şi zileutonului (Uetrecht J., 2009).

Actualmente în lume sunt circa 2000 de centre ce analizează hepatotoxicitatea medicamentelor, printre care Asociaţia Europeană şi Britanică de studiu a ficatului, Asociaţia Americană a hepatologilor, FDA, OMS etc. Astfel, o subdiviziune a FDA în 24 ore înregistrează peste 1000 de apelări despre hepatotoxicitatea medicamentelor, iar AMF sunt cea mai frecventă cauză de retragere a medicamentelor de pe piaţa farmaceutică (Бабак О.Я., 2008). E important de menţionat că creşte semnificativ şi numărul de medicamente implicate în hepatotoxicitate. Astfel, dacă în 1991 se citau 748, în 2000 – circa 1000, atunci actualmente –1000-1800 de preparate, printre care circa 200 au un potenţial hepatotoxic mare (Ушкалова Е.А., 2003, 2007, Степанов Ю.М. и др., 2005). Printre cele mai frecvente medicamente hepatotoxice se menţionează: paracetamolul, preparatele antituberculoase, antitumorale şi antivirale, anabolizantele steroidiene, androgenii, estrogenii, statinele, anticoagulantele cumarinice, fenotiazinele, amiodarona, carbamazepina, fenitoina, acidul valproic, eritromicina, sulfamidele, co-trimoxazolul, nitrofurantoina, fluconazolul, ketoconazolul, metimazolul, propiltiouracilul, fluoxetina, acarboza, halotanul, orlistatul etc.

Spitalizarea, cauzată de AMF, constituie 2-3% (de la 1:600 la 1:1350) din complicaţiile farmacoterapiei. Incidenţa reacţiilor hepatice variază în funcţie de apartenenţa de grupă de la 1:100 (izoniazidă şi clorpromazină), 1:1000 (fenitoină) până la 1:10000 (sulindac) şi 1:100000 (diclofenac). Aceasta depinde atât de potenţialul hepatotoxic, cât şi de frecvenţa utilizării în practica medicală. Astfel, Centrul neozelandez de monitorizare a reacţiilor adverse a înregistrat circa 205 preparate, printre care antireumatice, neuroleptice, antidepresive, anticonvulsivante şi antituberculoase (Ушкалова Е.А., 2003, 2007).

Studiul clinic a 140 pacienţi cu hepatite medicamentoase a demonstrat că acestea au fost provocate de preparatele antimicrobiene (45%), fitopreparate (17,1%), antiinflamatoarele nesteroidiene (13,6%), anticoncepţionalele orale (13,6%) şi statine (10,7%) (Калачнюк Т.Н., 2011).

În practica medicală destul de rar se stabileşte un diagnostic de AMF, posibil, din următoarele cauze: a) nedorinţa pacienţilor de a informa despre utilizarea unor preparate (anxiolitice, antidepresive, neuroleptice, preparate ce cresc potenţa etc.)

sau că folosirea unora din ele nu este atât de semnificativă (laxative și/sau purgative, preparate vegetale, anorexigene etc.); b) evitarea înregistrării de către medici a maladiilor iatrogene, inclusiv a hepatotoxicității medicamentelor; c) tractarea neadecvată a simptomaticii ((Буеверов А.О., 2008).

O problemă importantă a incidenței crescute a AMF se consideră utilizarea diferitor preparate vegetale și suplimente alimentare biologic active care, deși nu toate sunt înregistrate ca medicamente, se folosesc pe larg în tratamentul unui număr impunător de maladii, inclusiv și celor a ficatului. Pericolul acestora este determinat de: a) multiplii componenți care nu permit a elucida substanța responsabilă de reacția adversă; b) absența controlului după efectele adverse și înregistrarea obligatorie; c) eliberarea fără prescripție medicală și agresivitatea publicității (Dumbrava V.T. și coaut., 2004, 2010, Tarantino G.et al., 2009, David S., Hamilton J.A., 2010, Буеверов А.О., 2008, Калачнюк Т.Н., 2011).

Creșterea frecvenței AMF poate fi determinată și de necesitatea prescrierii preparatului după indicații vitale. De exemplu, utilizarea preparatelor antitumorale la pacienții oncologici, remediilor antiretrovirale la bolnavii cu HIV/SIDA, imunodepresivelor la pacienții cu transplant de organe, substanțelor antituberculoase, inclusiv a asociațiilor lor, în tratamentul tuberculozei. În acest caz suspendarea farmacoterapiei de bază poate agrava evoluția maladiei, iar pe de altă parte continuarea ei poate fi cauza unei maladii hepatice grave ((Буеверов А.О., 2008).

În conformitate cu a 10-a Clasificare Internațională a Maladiilor, afecțiunile toxice ale ficatului se clasifică în:

K 71. Afecțiunile toxice ale ficatului

K 71.0 Afecțiuni toxice ale ficatului cu colestază.

K 71.1 Afecțiuni toxice ale ficatului cu necroza hepatică

K 71.2. Afecțiuni toxice ale ficatului cu evoluție după tipul hepatitei acute

K 71.3. Afecțiuni toxice ale ficatului cu evoluție după tipul hepatitei cronice persistente

K 71.4. Afecțiuni toxice ale ficatului cu evoluție după tipul hepatitei cronice lobulare

K 71.5. Afecțiuni toxice ale ficatului cu evoluție după tipul hepatitei cronice active

K 71.6. Afecțiuni toxice ale ficatului cu evoluție a hepatitei neclasificate

K 71.7. Afecțiuni toxice ale ficatului cu fibroză și ciroză hepatică

K 71.8. Afecțiuni toxice ale ficatului cu tabloul altor dereglări hepatice

K 71.9. Afecțiuni toxice ale ficatului neidentificate

**Factorii de risc.** Factorii ce pot determina reacția ficatului la medicamente pot fi: starea inițială a ficatului (prezența maladiilor ficatului); maladiile sistemice coexistente; vârsta și sexul; graviditatea; predispoziția genetică (polimorfismul genelor); doza și durata administrării preparatelor; starea funcțională a rinichilor; factorii exogeni (utilizarea alcoolului, fumatul etc); utilizarea altor medicamente și interacțiunile medicamentoase (Dumbrava V.T. și coaut., 2004, 2010, Uetrecht J., 2009, Grattagliona I. et al., 2009, Tarantino G.et al., 2009, Степанов Ю.М. и др., 2005, Ключарева А.А., 2007, Бабак О.Я., 2008, Скрыпник И.Н., 2008, 2009, Яковенко Э.П. и др., 2009, Мухин Н.А., Моисеев С.В., 2010, Ковтун А.В. и др., 2011 ). Factorii respectivi pot fi divizaţi în externi (utilizarea alcoolului, administrarea mai multor medicamente, reacţii la preparate în anamneză); endogeni (sexul feminin, vârsta peste 40 ani, graviditatea, obezitatea, caşexia, maladiile ficatului, polimorfismul genetic etc.) şi particularităţile medicamentului (doza şi durata administrării, toxicitatea mitocondrială, imunogenitatea) (Яковенко Э.П. и др., 2009, Ковтун А.В. и др., 2011).

Starea iniţială a ficatului, ca factor de risc al afecţiunilor medicamentoase ale ficatului, poate fi determinată de: gradul de insuficienţă hepato-celulară (maximă în ciroza hepatică); diminuarea fluxului sangvin (pentru preparatele ce se metabolizează la primul pasaj hepatic); dereglarea proceselor de metabolizare (biotransformare, conjugare); afectarea funcţiei sintetice (de exemplu, albuminei cu micşorarea cuplării medicamentelor) (Скрыпник И.Н., 2008). Pacienţii cu HIV/SIDA, îndeosebi la asocierea hepatitelor virale şi tuberculozei, care urmează terapia antiretrovirală prezintă un risc mai mare de creştere a hepatotoxicităţii preparatelor de bază şi celor asociate. Cercetările din ultimii ani denotă că maladiile hepatice preexistente nu întotdeauna joacă un rol neesenţial în calitate de factor de risc al hepatotoxicităţii medicamentelor (Uetrecht J., 2009, Tarantino G.et al., 2009, David S., Hamilton J.A., 2010, Бабак О.Я., 2008).

Persoanele adulte prezintă, în general, un risc mai mare de hepatotoxicitate decât copiii, deoarece este redus clearancele medicamentelor, fluxul hepatic şi este mai mare probabilitatea interacţiunilor medicamentoase. Astfel, la adulţi se constată un risc mai mare de hepatotoxicitate faţă de halotan, nitrofurantoină, flucloxacilină, isoniazidă. La copii hepatotoxicitatea se poate dezvolta mai frecvent la utilizarea acidului acetilsalicilic, eritromicinei estolat, acidului valproic. La ultimul incidenţa constituie 1:37000, iar la copii sub 3 ani chiar 1:500 (Uetrecht J., 2009). Cazurile de hepatotoxicitate la copii sunt preponderent determinate de supradozare. Incidenţa mai mare a AMF la vârstnici este determinată de reducerea epurării medicamntelor, îndeosebi celor ce se supun biotransformării în prima fază. Aceasta poate fi cauzată de micşorarea volumului ficatului şi fluxului sangvin, mai puţin de reducerea activităţii citocromului P-450 (Tarantino G.et al., 2009, Бабак О.Я., 2008, Скрыпник И.Н., 2008).

Sexul poate determina atât intensificarea acţiunii toxice directe, cât şi sensibilitatea la factorii hepatotoxici. Frecvenţa AMF este mai mare la femei (circa 75% din cazuri). La femei se constată circa 79% cazuri de AMF induse de paracetamol şi 73% din cele idiosincrazice. Femeile sunt mai sensibile la halotan, clorpromazină, diclofenac etc. (Uetrecht J., 2009, Tarantino G.et al., 2009).

Predispoziţia genetică (polimorfismul şi defectele genetice) poate fi responsabilă de hepatotoxicitate, inclusiv de dezvoltarea hepatitelor acute şi insuficienţei hepatice fulminante. Studiile de farmacogenetică au constatat că hepatotoxicitatea medicamentelor poate fi determinată de polimorfismul enzimelor fazei I (izoenzimele citocromului P-450) şi II (reacţiile de conjugare) de metabolizare: polimorfismul CYP 2D6 (perhexilina), CYP 2C19 (fenobarbital, febarbamat etc.), CYP 2E1 (paracetamol, alcool), sulfoxidazei (fenotiazine), glutation-S-transferazei (tacrin), glutation sintetazei (paracetamol, antituberculoase), N-acetiltransferazei (antituberculoase) etc. (Dumbrava V.T. şi coaut., 2004, 2010, Uetrecht J., 2009, Tarantino G.et al., 2009, David S., Hamilton J.A., 2010, Ушкалова Е.А., 2003, 2007, Виноградова С.В., Кравченко Н.А., 2007, Скрыпник И.Н., 2008)

**Tipurile de afecţiuni medicamentoase ale ficatului.** În literatura de specialitate se discută din punct de vedere terminologic şi patogenetic definitivarea noţiunilor ce ar semnifica leziunile medicamentoase ale ficatului (Dumbrava V.T. şi coaut., 2004, 2010, Uetrecht J., 2009, Grattagliano I et al., 2009, Russmann S. et al. 2009, Kshirsagar A.et al., 2009, David S., Hamilton J.A., 2010, Cosgrove B.D. et al., 2010, Roth R.A., Ganey P.E., 2010, Пентюк А.А. и др. 2001, Степанов Ю.М. и др., 2005, Ушкалова Е.А., 2003, 2007, Ключарева А.А., 2007, Бабак О.Я., 2008, Скрыпник И.Н., 2008, 2009, Ивашкин В.Т. и др. 2009, Мухин Н.А., Моисеев С.В., 2010, Ковтун А.В. и др., 2011). În majoritatea cazurilor se estimează o acţiune toxică directă şi o reacţie neobişnuită, idiosincrazică. Analiza semnificaţiei termenilor şi argumentele ce le însoţesc ne permit să propunem a diviza AMF din punct de vedere patogenetic în: 1) toxice sau intrinseci; 2) reacţii de hipersensibilitate (alergice, pseudoalergice (nonalergice), idiosincrazice) şi mixte. Reacţiile de hipersensibilitate mai frecvent se asociază cu termenul de idiosincrazie, care la rândul său se divizează în alergice şi non-alergice sau imunoalergice şi metabolice. În ultimul timp această divizare se consideră convenţională deoarece unele toxice directe (paracetamol etc.) pot provoca AMF prin mecanism de hipersensibilizare, iar unele preparate ce provoacă preponderent afecţiuni idiosincrazice pot fi implicate şi în mecanisme toxice directe prin metaboliţii toxici evidenţiaţi recent.

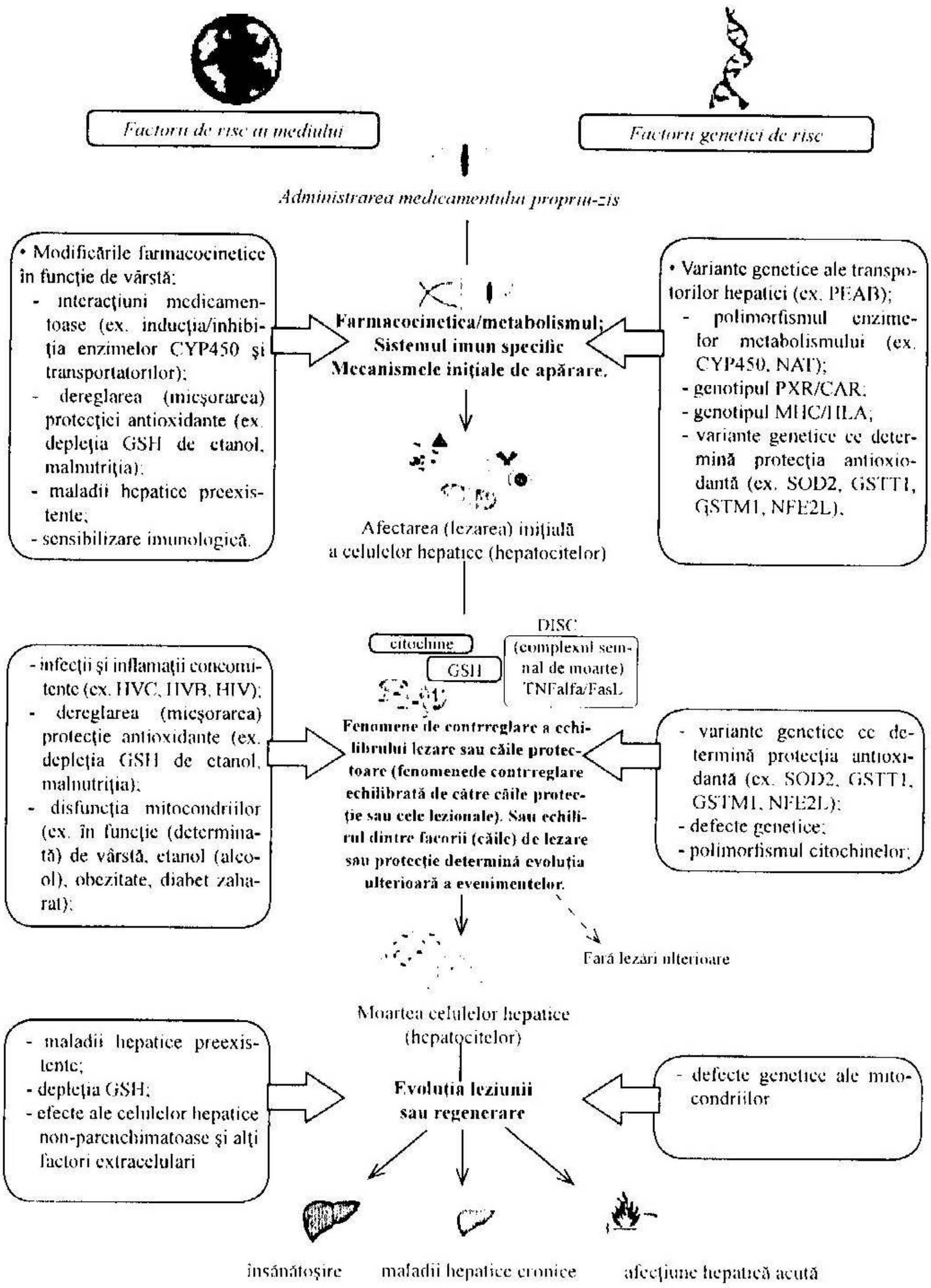
Acţiunea toxică (directă, intrinsecă, previzibilă, dozo-dependentă) poate fi cauzată de medicament si/sau metabolitul/metaboliţii săi. Afecţiunile medicamentoase ale ficatului în acest caz sunt cauzate de hepatotoxice pentru care este caracteristic: dependenţa riscului şi gradului de afectare de doză şi durata expunerii; perioadă de latenţă mică, de regulă, cunoscută; sunt previzibile; pot fi remodelate în condiţii experimentale (Dumbrava V.T. şi coaut., 2004, 2010, Grattagliano I et al., 2009, Russmann S. et al. 2009, Cosgrove B.D. et al., 2010, Roth R.A., Ganey P.E., 2010, Пентюк А.А. и др. 2001, Степанов Ю.М. и др., 2005, Щульпекова Ю.О., 2006, 2007, Ключарева А.А., 2007, Бабак О.Я., 2008, Скрыпник И.Н., 2008, 2009, Мухин Н.А., Моисеев С.В., 2010, Ковтун А.В. и др., 2011). Hepatopatiile la administrarea toxicelor directe pot fi determinate de: supradozare; dereglarea proceselor de metabolizare; inducţia şi/sau supresia enzimelor ce participă la biotransformare şi conjugare (Tarantino G.et al., 2009, Пентюк А.А. и др. 2001, Щульпекова Ю.О., 2006, 2007, Бабак О.Я., 2008). De efectul hepatotoxic direct, de regulă, sunt responsabile un număr redus de preparate, precum paracetamolul, tetraclorura de carbon, tetraciclina, isoniazida, metotrexatul, D-galactozamina, griseofulvina, amiodarona, mercaptopurina, acidul nicotinic, citostaticele (Пентюк А.А. и др. 2001, Бабак О.Я., 2008, Мухин Н.А., Моисеев С.В., 2010). În unele situaţii, acţiunea hepatotoxică este cauzată de metaboliţii preparatului, precum pentru paracetamol – N-acetilbenzochinonimină, tetraclorura de carbon – triclormetan, clorul etc. Hepatotoxicele cu acţiune directă cel mai frecvent îşi realizează efectul prin următoarele mecanisme: afectarea nemijlocită a structurilor membranare, denaturarea proteinelor; formarea speciilor reactive ale oxigenului şi/sau azotului şi activarea proceselor de peroxidare a lipidelor (Щульпекова Ю.О., 2008). Pentru afectarea ficatului de către hepatotoxicele directe histologic sunt caracteristice: necroza şi/sau apoptoza, distrofia lipidică.

Russmann S şi coaut.(2009) au relevat corelaţia dintre factorii mediului expern şi cei genetici în patogeneza AMF (*fig.1.1.1*).

Preparatele cu acţiune hepatotoxică indirectă prin reacţiile de sensibilizare se pot considera şi hepatotoxice facultative deoarece: nu se poate stabili o corelaţie strictă între doză şi riscul afectării ficatului; se constată doar la o parte de indivizi; perioada latentă are durată variată (de la câteva săptămâni la luni sau chiar ani de zile); sunt imprevizibile; nu pot fi remodelate experimental (Dumbrava V.T. şi coaut., 2004, 2010, Grattagliano I et al., 2009, Russmann S. et al. 2009, Cosgrove B.D. et al., 2010, Roth R.A., Ganey P.E., 2010, Пентюк А.А. и др. 2001, Степанов Ю.М. и др., 2005, Щульпекова Ю.О., 2007, Ключарева А.А., 2007, Бабак О.Я., 2008, Скрыпник И.Н., 2008, Ковтун А.В. и др., 2011). Aceste caracteristici au determinat apariţia sinonimelor acţiunii hepatotoxice (indirectă, imprevizibilă, dozo-nondependentă, idiosincrazică) care aveau la bază diferite criterii (Grattagliano I et al., 2009, Russmann S. et al. 2009, Cosgrove B.D. et al., 2010, Roth R.A., Ganey P.E., 2010, Пентюк А.А. и др. 2001, Степанов Ю.М. и др., 2005, Щульпекова Ю.О., 2007, Бабак О.Я., 2008, Буеверов А.О., 2008). Reieşind din analiza literaturii, astfel de acţiuni se includ în termenul de reacţii de hipersensibilitate, deoarece mecanismele patofiziologice pot fi diferite, dar care explică în cele din urmă particularităţile răspunsului individului la preparat.

Reacţiile de hipersensibilitate la hepatotoxice patogenetic pot fi alergice, nonsau pseudoalergice şi idiosincrazice (Буеверов А.О., 2008). Cele de tip alergic, imunologic se deosebesc prin evoluţia bifazică (sensibilizarea şi reacţia manifestă), dar clinic se pot realiza prin cele patru variante de răspuns imun. Dezvoltarea reacţiilor alergice nu depinde de doza preparatului. În cazul reacţiei imunologice, preparatul şi/sau metabolitul său se cuplează cu proteinele structurilor celulare cu formarea haptenelor (aducturilor) la care se dezvoltă o reacţie mediată umoral sau celular cu producerea anticorpilor. În acest caz este caracteristică şi prezenţa altor manifestări ale alergiei (febra, pruritul, artralgia, eozinofilia etc.).

Reacţiile non- sau pseudoalergice de hepatotoxicitate se pot dezvolta la prima administrare a preparatului cu absenţa anticorpilor specifici şi se poate elucida o dependenţă relativă de doză, dar nu atât de strictă ca în hepatotoxicitatea directă (Буеверов А.О., 2008).


*Factorii de risc ai mediului*
*Factorii genetici de risc*
*Administrarea medicamentului propriu-zis*
citochine
GSH
DISC
(complexul semnal de moarte)
TNFalfa/FasL
Fară lezări ulterioare

- Modificările farmacocinetice în funcţie de vârstă:
  - interacţiuni medicamentoase (ex. inducţia/inhibiţia enzimelor CYP450 şi transportatorilor);
  - dereglarea (micşorarea) protecţiei antioxidante (ex. depleţia GSH de etanol, malnutriţia);
  - maladii hepatice preexistente;
  - sensibilizare imunologică.

**Farmacocinetica/metabolismul; Sistemul imun specific Mecanismele iniţiale de apărare.**

- Variante genetice ale transpotorilor hepatici (ex. PEAB);
  - polimorfismul enzimelor metabolismului (ex. CYP450, NAT);
  - genotipul PXR/CAR;
  - genotipul MHC/HLA;
  - variante genetice ce determină protecţia antioxidantă (ex. SOD2, GSTT1, GSTM1, NFE2L).

Afectarea (lezarea) iniţială a celulelor hepatice (hepatocitelor)

- infecţii şi inflamaţii concomitente (ex. HVC, HVB, HIV);
- dereglarea (micşorarea) protecţie antioxidante (ex. depleţia GSH de etanol, malnutriţia);
- disfuncţia mitocondriilor (ex. în funcţie (determinată) de vârstă, etanol (alcool), obezitate, diabet zaharat);

**Fenomene de contrreglare a echilibrului lezare sau căile protectoare (fenomenede contrreglare echilibrată de către căile protecţie sau cele lezionale). Sau echilirul dintre facorii (căile) de lezare sau protecţie determină evoluţia ulterioară a evenimentelor.**

- variante genetice ce determină protecţia antioxidantă (ex. SOD2, GSTT1, GSTM1, NFE2L);
- defecte genetice;
- polimorfismul citochinelor;

Moartea celulelor hepatice (hepatocitelor)

- maladii hepatice preexistente;
- depleţia GSH;
- efecte ale celulelor hepatice non-parenchimatoase şi alţi factori extracelulari

**Evoluţia leziunii sau regenerare**

- defecte genetice ale mitocondriilor

însănătoşire

maladii hepatice cronice

afecţiune hepatică acută

**Fig. 1.1.1 Factorii de risc ai hepatotoxicităţii şi influenţa lor asupra diferitor procese în ficat**
(după Russmann S et.al., 2009).

Idiosincrazia, ca reacţie de hipersensibilitate, este determinată de defectele congenitale ale enzimelor ce participă în metabolismul preparatului şi se manifestă prin efecte imprevizibile, inclusiv şi prin hepatotoxicitate (Буеверов А.О., 2008). Acţiunea hepatotoxică survine la prima sau a doua administrare a preparatului şi nu întotdeauna depinde de doză (Буеверов А.О., 2008, Бабак О.Я., 2008).

Hepatotoxicele cu acţiune de hipersensibilizare pot produce modificări histologice de tipul necrozei, steatozei, colestazei sau transformării tumorale, infiltrării inflamatoare secundare (Шульпекова Ю.О., 2007, Мухин Н.А., Моисеев С.В., 2010).

**Mecanismele acţiunii hepatotoxice a medicamentelor.** Acţiunea toxică directă a preparatelor şi/sau metaboliţilor săi şi afectarea imunoalergică a ficatului sunt mecanismele principale în inducerea toxicităţii. La nivel molecular medicamentele pot acţiona asupra hepatocitelor, colangiocitelor, celulelor stelate (Ito), celulelor Kupfer şi celulelor sinusoidale ale endoteliului. Aparatul mitocondrial al hepatocitelor este ţinta principală a hepatotoxicelor, iar disfuncţia mitocondrială e recunoscută ca determinantă în realizarea acţiunii hepatotoxice (Tarantino G.et al., 2009, David S., Hamilton J.A., 2010, Au J.S.et al., 2011, Бабак О.Я., 2008, Ковтун А.В. и др., 2011). Un rol important în dezvoltarea hepatotoxicităţii medicamentelor îl pot avea proteinele transportoare ale ficatului (peptidele de transport a anionilor organici, proteinele asociate cu rezistenţa multiplă, pompa ce transportă sărurile biliare) şi reacţiile receptor-mediate de reglare a metabolismului şi transportului medicamentelor (Бабак О.Я., 2008).

Se evidenţiază câteva mecanisme universale de lezare ale hepatocitelor: afectarea mitocondriilor (mitocondriopatii) cu depleţia energiei (ATP); inducerea stresului oxidativ şi activarea POL; inhibarea beta-oxidării acizilor graşi; inhibarea sintezei proteinelor şi/sau denaturarea lor, dereglarea sintezei hemului; diminuarea transportului acizilor biliari; reacţii imunoalergice; acţiunea mutagenă, procancerigenă; dereglarea homeostazei calciului; afectarea citoscheletului (Tarantino G.et al., 2009, David S., Hamilton J.A., 2010, Au J.S.et al., 2011, Шульпекова Ю.О., 2007, Виноградова С.В., Кравченко Н.А., 2007, Буеверов А.О., 2008).

***Afectarea mitocondriilor.*** Afectarea mitocondriilor este, de regulă, o verigă finală comună a căilor ce duc la moartea celulelor prin necroză şi apoptoză. E important de menţionat că în afecţiunea hepatică implicarea mitocondriilor este un rezultat al acţiunii directe a medicamentelor asupra acestor organele (de exemplu, acumularea medicamentelor, inhibarea transportului electronilor şi oxidării acizilor graşi sau micşorarea protecţiei antioxidante) sau indirecte ca urmare a participării mitocondriilor în programul morţii celulelor care duce la necroză sau apoptoză. Acesta este mediat de mecanisme ce survin la nivelul membranei celulare (de exemplu, receptorii morţii) sau în compartimentele subcelulare (de exemplu, reticulul endoplasmatic sau nucleul). Evidenţa îmbinării între acţiunea directă şi indirectă în hepatotoxicitatea medicamentelor a fost recent elucidată. Astfel, efectul direct al medicamentelor sau metaboliţilor lor promovează producerea de

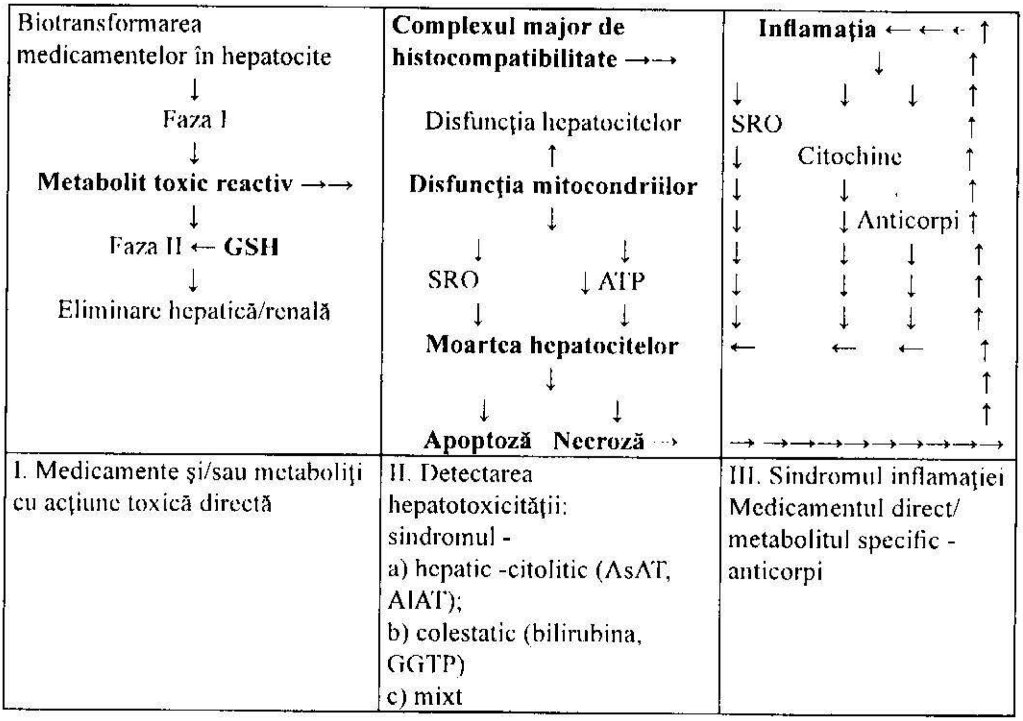

Biotransformarea medicamentelor în hepatocite
Faza I
Metabolit toxic reactiv
Faza II ← GSH
Eliminare hepatică/renală
Complexul major de histocompatibilitate
Disfuncţia hepatocitelor
Disfuncţia mitocondriilor
SRO
↓ ATP
Moartea hepatocitelor
Apoptoză
Necroză
Inflamaţia
SRO
Citochine
Anticorpi
I. Medicamente şi/sau metaboliţi cu acţiune toxică directă
II. Detectarea hepatotoxicităţii: sindromul - a) hepatic -citolitic (AsAT, AlAT); b) colestatic (bilirubina, GGTP) c) mixt
III. Sindromul inflamaţiei Medicamentul direct/ metabolitul specific - anticorpi

**Fig. 1.1.2 Mecanismele afecţiunilor medicamentoase ale ficatului (aspecte generale)** (după David S., Hamilton J.P., 2010).

**Notă.** I. Medicamentele se supun metabolismului prin faza I şi II cu formarea metaboliţilor intermediari toxici. II. Metaboliţii toxici pot induce disfuncţia mitocondriilor şi hepatocitelor cu inducerea apoptozei şi necrozei hepatocitelor. III. Medicamentele se cuplează cu membrana celulară cu prezentare către complexele de histocompatibilitate majoră (CHM) cu dezvoltarea inflamaţiei care prin specii reactive ale oxigenului (SRO), citochine, anticorpi provoacă moartea hepatocitelor. Necroza induce o inflamaţie.

mitocondrii a SRO, pe când efectul indirect are loc prin evoluţia programelor de transducţie a semnalelor în celule cu diminuarea funcţiilor mitocondriilor (Jones D.P.et al., 2010).

Afectarea mitocondriilor este cauzată de blocada lanţului respirator şi activarea POL prin hiperproducerea radicalilor liberi. Peroxidarea acizilor graşi nesaturaţi din membranele mitocondriilor şi reticulului endoplasmatic contribuie la eliberarea enzimelor (inclusiv citocromilor) în citoplasmă şi activarea cascadei apoptotice cu includerea mecanismului morţii programate a celulei După acest mecanism acţionează tetraciclinele, antiinflamatoarele nesteroidiene etc. (Шульнекова Ю.О., 2007).

***Stresul oxidativ.*** Inducerea stresului oxidativ prin substanţele iniţiale sau metaboliţii săi contribuie la intensificarea proceselor oxidative cu formarea speciilor reactive ale oxigenului (SRO) şi ale azotului (SRN) cu iepuizarea sistemului antioxidant (enzimelor, glutationului (GSH) etc.) ce duce la afectarea structurilor celulare. Acest mecanism se realizează la supradozarea paracetamolului (Шульпекова Ю.О., 2007, Виноградова С.В., Кравченко Н.А., 2007, Буеверов А.О., 2008).

Toxicitatea oxigenului este asociată cu capacitatea lui de a oxida moleculele organice cu producerea de radicali liberi după reacţiile de transfer a unui electron ($RH_2 + O_2 \rightarrow RH^{-}$ 1) sau a 2 electroni ($RH_2 + O_2 \rightarrow R + H_2O_2$). Speciile reactive ale oxigenului şi azotului sunt implicate în multiple maladii hepatice produse de alcool, acetaminofen, virusuri etc. Acestea pot afecta lanţul respirator şi energetic şi regenerarea în ficat. Dezechilibru între citochinele pro- şi antiinflamatorii, expresia genelor colagenului şi angiogenezei în celulele endoteliale şi stelate agravează aceste maladii. În baza acestor date, terapia antioxidantă, singură sau în asociere cu alte strategii famacologice, este un tratament rezonabil în variate maladii hepatice (Muriel P., 2009).

Speciile reactive ale oxigenului, anionul superoxid şi peroxidul de hidrogen, sunt responsabile de leziunea ficatului ca răspuns la ischemie/reperfuzie, stresul oxidativ şi utilizarea a mai multe substanţe toxice. Anionul superoxid şi peroxidul de hidrogen, în prezenţa fierului, reacţionează cu formarea radicalului hidroxil. Fierul, de asemenea, catalizează reacţia POL în lanţ. Anionul superoxid, de asemenea, reacţionează cu NO, o specie reactivă a azotului (SRN), cu formarea peroxinitritului, care într-un timp scurt se discompune în radical hidroxil. Peroxinitritul de asemenea cauzează nitrarea reziduurilor tirozilice ale proteinelor. Astfel, SRO şi SRN sunt intermediari importanţi ai toxicităţii asupra ficatului şi altor ţesuturi. Fierul există în două fracţii în celule şi ţesuturi. Prima este fierul non-chelatic, care se conţine în feritină, hemosiderină şi grupele prostetice ale proteinelor (de exemplu, hem şi complexele fier sulfatate). Acest fier, cu excepţia catalizării de enzime, este în general ireactiv în volumul soluţiilor de oxido-reducere chimică şi rămâne inaccesibil pentru chelatare cu chelatori precum desferalul. A doua fracţie conţine fier liber şi capabil să se cupleze. În realitate fierul bivalent şi trivalent se asociază cu metaboliţii polianionici precum citratul şi acesta este cel mai uşor fier chelatat. În hepatocite fierul, ce poate fi chelatat, se estimează la 5 µM (Jones D.P.et al., 2010).

Excesul de fier este toxic. La supradozarea acută cauzează necroză hepatocelulară şi hematocromatoza ereditară, ce rezultă în fibroza hepatică. Supraîncărcarea cu fier, de asemenea, este responsabilă de exacerbarea maladiilor cardiovasculare, diabetului zaharat, cancerului, steatohepatitei alcoolice şi non-alcoolice. În modele de stres oxidativ, hipoxie/ischemie şi afecţiuni medicamentoase ale ficatului, creşterea intracelulară a fierului chelatabil provoacă moartea celulelor, iar chelatorii (desferal) manifestă efect protector. În unele observaţii s-a demonstrat rolul fierului în aceste maladii prin formarea SRO, inclusiv a radicalului hidroxil din peroxidul de hidrogen. În reacţia Fenton clasică, catalizată de fier, anionul superoxid regenerează fierul bivalent prin reducerea fierului trivalent prin interacţiunea cu peroxidul de hidrogen. În aceste condiţii un mimetic al superoxiddismutazei, ce convertează anionul superoxid în oxigen molecular şi peroxid de hidrogen, a manifestat efect protector. Aceste date sugerează că ferireductaza reduce direct fierul trivalent în bivalent, un eveniment ce ocoleşte necesitatea în anionul superoxid. Pentru realizarea hepatotoxicităţii este necesar să se dezvolte şi stresul oxidativ şi creşterea fierului chelatabil (Jones D.P.et al., 2010).

Lipidele polinesaturate sunt esenţiale pentru suportul şi integritatea celulelor, inclusiv membranelor celulare, reticulului endoplasmatic şi mitocondriilor. Afectarea proprietăţilor lor structurale au consecinţe nefaste pentru funcţionarea celulelor. Inducerea POL este un efect major al radicalilor liberi. Speciile reactive ale oxigenului şi azotului sunt produse în normă şi în cazul metabolismului celular cu efecte benefice precum: citotoxicitatea asupra bacteriilor şi altor patogeni. Speciile respective sunt produse cu participarea NADP(H)oxidazei, nitroxid sintetazei (NOS) şi mieloperoxidazelor. Deoarece aceşti radicali liberi pot leza ţesuturile normale echilibrul dintre antioxidanţi şi prooxidanţi este critic pentru funcţionarea normală (Muriel P.et al., 2009).

Stresul oxidativ este implicat în variate maladii hepatice: ischemie/reperfuzie, afectarea indusă prin alcool, paracetamol, hepatite, colestază, hepatitele virale, steatohepatita non-alcoolică şi carcinogeneză. Anionul superoxid cauzează în cultura de hepatocite apoptoza acestora dependentă de chinazele JNK şi caspaze. În diferite modele experimentale de stres oxidativ s-a demonstrat rolul SRO în patogeneza afecţiunilor hepatice. Astfel, diquatul şi menadiona induc stresul oxidativ prin creşterea nivelului glutationului oxidat (GSSG), 4 – hidroxinonenalului (4-HNE), aductelor proteice, a activităţii AlAT cu dezvoltarea necrozei peste 3-6 ore (Ji-Young Hong et al., 2009).

Generarea anionului superoxid prin modelul menadionic a cauzat necroză cu micşorarea proteinelor tiolice şi dezechilibru homeostazei calciului intracelular. Similar t-butilhidroperoxidul cauzează necroză prin formarea în mitocondrii a SRO, care deschid porii în membranele mitocondriilor cu creşterea permeabilităţii şi prăbuşirea potenţialului transmembranar (Ji-Young Hong et al., 2009).

Diquatul generează anionul superoxid care creşte efluxul GSSG în bilă peste 60-80 minute, iar fluxul bilei se reduce moderat în prima oră, urmând să se micşoreze vădit la a doua oră. Majorarea concentraţiei GSSG în bilă şi plasmă se consideră un indicator ferm şi specific al stresului oxidativ în hepatocite, deoarece glutationul oxidat rapid este convertit de GR în GSH. Concomitent, se induce stresul oxidativ care rezultă prin progresia afecţiunii hepatice confirmată prin eliberarea AlAT din hepatocite şi necroza acestora la 3-6 ore. Nivelul ATP s-a redus cu 50% către a şasea oră. Aria necrozei din jurul venei centrale corela cu determinarea adductelor 4-HNE, un indicator al POL (Ji-Young Hong et al., 2009).

Glutationul redus (GSH)şi oxidat (GSSG) formează un sistem tiolic redox intracelular în eritrocite. Una din funcţiile principale ale GSH se reduce la detoxicarea metaboliţilor electrofili reactivi şi toxici ai oxigenului, generaţi în procesul metabolizării substanţelor endogene şi exogene. Unii intermediari, precum peroxidul de hidrogen şi hidroperoxizii, sunt reduşi de GPx cu folosirea GSH, iar glutationul oxidat (GSSG) format este redus prin GR într-o reacţie NADPH-dependentă. Funcţionarea normală a acestui sistem închis asigură un raport adecvat al GSH/GSSG şi protejează celulele de modificările oxidative. Mai mulţi compuşi electrofili exo şi endogeni, de asemenea, sunt conjugaţi cu GSH prin intermediul GST. Medicamentele care micşorează nivelul GSH sau modifică activitatea enzimelor GSH-dependente pot provoca efecte toxice (Kozer E.et al., 2003, Andringa K.K.et al., 2008).

Depleţia GSH în eritrocite reflectă starea statusului glutationic şi în alte ţesuturi, inclusiv în hepatocite. Deşi eritrocitele sintetizează GSH, există un ciclu interorganic prin care hepatocitele, fiind un organ principal ce reduce GSSG, transportă GSH în plasmă şi eritrocite. În studii pe animale s-a demonstrat că intoxicaţia acută cu paracetamol poate diminua nivelul GSH în eritrocite (Kozer E.et al., 2003, Andringa K.K.et al., 2008).

Inhibarea beta-oxidării acizilor graşi în mitocondrii contribuie la acumularea lor în celule (steatoza) cu activarea secundară a POL, iar la utilizarea cronică a hepatotoxicului la dezvoltarea fibrozei şi cirozei hepatice. Astfel de modificări pot surveni la administrarea valproatului sodic cu formarea metabolitului său – acidul 2-propilpentaenic (Tarantino A.et al., 2009, Шульпекова Ю.О., 2007, Виноградова С.В., Кравченко Н.А., 2007, Буеверов А.О., 2008).

***Dereglarea sintezei proteinelor structurale*** şi enzimelor se poate realiza prin blocada ARN-polimerazei II şi III (de exemplu, citostaticele) cu dezvoltarea steatozei şi necrozei (Шульпекова Ю.О., 2007).

***Modificarea sintezei hemului*** se realizează ca urmare a inhibării coproporfirinoxigenazei şi uroporfirinogen-decarboxilazei hepatocitelor ce contribuie la manifestarea copro- şi uroporfirinuriei secundare sau porfiriei cutanate tardive (Шульпекова Ю.О., 2007).

***Diminuarea transportului acizilor biliari*** drept consecinţă a dereglării mecanismelor canaliculare de transport se manifestă prin colestază intrahepatică cu acumularea în celule a acizilor biliari ce iniţiază afectarea organitelor şi apoptoza. Acest mecanism poate fi carcateristic la peste 100 de preparate, precum androgeni, anticoncepţionale ce conţin estrogeni etc. (Шульпекова Ю.О., 2007).

***Reacţiile imunoalergice*** se explică prin formarea neoantigenilor din cauza afectării proteinelor celulare care activează veriga citotoxică a imunităţii (limfocitele citotoxice) cu inducerea apoptozei şi necrozei. După acest mecanism pot acţiona halotanul, sulfamidele etc. (Tarantino A.et al., 2009, Шульпекова Ю.О., 2007).

Mecanismele imune ale hepatotoxicităţii includ funcţionarea limfocitelor chiler şi cooperaţiilor celulare, formarea neoantigenilor şi autoanticorpilor, acţiunea mediatorilor (citochinelor, NO etc.), activarea sistemului complementului (Чиркин А.А., 2000).

Hepatotoxicitatea imunoalergică este cauzată de metaboliţii medicamentelor care se cuplează covalent cu proteinele cu formarea haptenelor. Totodată, oxidarea

713553

Universitatea de Stat
de Medicină şi Farmacie
„Nicolae Testemiţanu"

proteinelor (în urma formării sau translocării legăturilor disulfidice) şi a reziduurilor aminoacizilor contribuie la apariţia unor determinante antigenice noi. Ca rezultat survine răspunsul imun cu producerea autoanticorpilor faţă de haptene şi neoantigeni cu dezvoltarea hepatitelor imunoalergice. Halotanii, de exemplu, în procesul metabolizării formează trifluoroacetilhalidin care se cuplează covalent cu proteinele, iar modificarea lor, în calitate de antigeni, iniţiază producerea de anticorpi şi citotoxicitatea mediată de limfocite. Scenariu similar se constată şi la utilizarea diclofenacului (acilglucuronid) şi etanolului (acetaldehida) (Чиркин А.А., 2000, Мухин Н.А., Моисеев С.В., 2010).

Citotoxicitatea limfocitelor joacă un rol important în patogeneza afecţiunilor hepatice. Limfocitele T sunt capabile să detecteze antigenii celulelor ţintă şi să se activeze la interacţiunea cu ele cu eliberarea din granule a porfirinei şi grăsimelor. Porfirina, în prezenţa ionilor de calciu, se polimerizează şi formează un complex care se infiltrează în membrana celulelor-ţintă cu dereglarea integrităţii ei. Grăsimele (esteraze, proteaze serinice etc.) şi calciul penetrează în citosol cu necroza celulelor-ţintă. Se mai estimează că moartea celulelor, cauzată de limfocite, poate fi determinată de modificarea permeabilităţii membranei cu hidroliza endonucleazică a ADN-ului (apoptoza indusă prin intermediul receptorilor) (Чиркин А.А., 2000, Мухин Н.А., Моисеев С.В., 2010).

Citochnele, ca un element important al homeostazei organismului, pot fi responsabile, în cazul hiperproducţiei, de afectarea ficatului sub acţiunea diferitor stimuli. Hepatocitele produc interferon-alfa (INFalfa), TNFalfa, IL-1, Il-6. Se consideră că TNFalfa şi IL-1 determină necroza şi afectarea sistemelor de transport, IL-6 – stimulează sinteza proteinelor fazei acute, IL-8 – serveşte ca chemoatractant pentru neutrofile, iar INFalfa – induce sinteza nitroxidsintetazei (NOS) cu creşterea NO ce exercită efect toxic asupra patogenilor intracelulari, celulelor tumorale ale ficatului etc. (Чиркин А.А., 2000).

Sistemul complementului, o cascadă de proteine plasmatice, se activează la interacţiunea C1-complementului cu complexul imun ce contribuie la activarea fagocitozei (C3b), celulelor Kupffer, neutrofilelor etc. În cele din urmă se formează un complex ce atacă suprafaţa membranei celulare, mecanism ce are loc în reacţiile imune, ischemie/reperfuzie, acţiunea radicalilor liberi şi endotoxemie (Чиркин А.А., 2000).

Cooperările celulare joacă un rol important în afecţiunile hepatice. Astfel, concentraţiile crescute de endotoxine, ce nimeresc prin vena portă, activează celulele Kupffer care eliberează chemoatractante (IL, LTB4, C5-complementul), ce contribuie la migrarea neutrofilelor circulante. Aceştea din urmă interacţionează cu receptorii, moleculele de adeziune cu aderarea la celulele endoteliale sinusoidale, iar moleculele de adeziune contribuie la migrarea leucocitelor în parenchimul hepatic. Neutrofilele activate produc specii reactive ale oxigenului care induc diferite tipuri de leziuni (POL, metaboliţi toxici etc.) cu formarea microtrombusurilor şi dezvoltarea hipoxiei locale şi necrozei lobulare (Чиркин А.А., 2000).

***Acţiunea mutagenă şi procancerigenă*** se poate realiza preponderent de metaboliţii activi (androgenii, estrogenii etc.) care afectează moleculele de ADN cu dezvoltarea adenomului şi carcinomului ficatului (Шульпекова Ю.О., 2007).

Kovtun A.V. şi coat. (2011) evidenţiază următoarele mecanisme patogenetice de dezvoltarea a AMF:

1) formarea radicalilor liberi şi intensificarea POL (necroza hepatocitelor);

2) cuplarea metaboliţilor cu proteinele hepatocitelor cu apariţia autoantigenilor circulanţi şi fixaţi pe membranele hepatocitelor cu iniţierea reacţiilor imunologice T-celulare (necroza hepatocitelor prin reacţia autoimună, granuloamele ficatului);

3) inducţia enzimelor intracelulare cu formarea metaboliţilor toxici cu proprietăţi cancerigene (tumori benigne – adenocarcinom, hiperplazia nodulară regeneratoare etc.);

4) concurenţa medicamentelor cu bilirubina prin cuplarea cu albuminele plasmatice sau acidul glucuronic în hepatocite, concurenţa pentru sistemele de transport a componentelor bilei (disfuncţie hepato-celulară cu: icter cu hiperbilirubinemie neconjugată; icter cu hiperbilirubinemie conjugată în lipsa altor semne ale colestazei);

5) dereglarea producerii apoproteinelor sau blocada enzimelor ce participă la sinteza lipoproteinelor cu densitate mică ce asigură eliminarea trigliceridelor din hepatocite (boala grasă a ficatului – steatoza şi/sau steatohepatita non-alcoolică);

6) blocada enzimelor ce participă la captarea, transportul intracelular şi eliminarea componentelor bilei din hepatocite şi dereglarea fluxului bilei prin canaliculele interbiliare (colestază intralobulară – hepatocelulară şi/sau canaliculară);

7) lezarea epiteliului ducturilor biliari (colestază intrahepatică extralobulară (ductulară));

8) inducţia funcţiilor celulelor stelate prin efect direct sau indirect prin necroza hepatocitelor (fibroza, ciroza hepatică);

9) afectarea patului vascular intrahepatic: dilatarea sinusoidelor, formarea anevrismelor, edemul subendotelial, obstrucţia sinusoidelor, venulelor portale şi hepatice, fibroza perisinusoidală (pelioza, maladia veno-ocluzivă, sindromul Badda-Kiari, hipertensia portală necirotică).

**Tabloul morfologic.** Iniţial survin reacţii adaptive relevate prin hiperplazia reticulului endoplasmatic neted, matitatea citoplasmei, hiperplazia mitocondriilor, anizocarioza şi dublarea nucleelor ce indică despre intensificarea proceselor metabolice. Ulterior se dezvoltă hepatopatiile de diferit tip. În funcţie de tabloul morfopatologic AMF se pot manifesta prin forme acute şi cronice. Cele acute se por caracteriza preponderent prin: steatoză, steatohepatită, necroză şi/sau apoptoză, colestază, inflamaţie, modificări vasculare sau mixte, iar cele cronice prin: modificări în parenchimul hepatic şi vasele; reacţii inflamatoare; fibroză; ciroză; tumori sau mixte (Dumbrava V.T. şi coaut., 2004, 2010, Kshirsagar A.et al., 2009, Степанов Ю.М. и др., 2005, Щульпекова Ю.О., 2007, Бабак О.Я., 2008).

**Steatoza** reprezintă acumularea anormală a trigliceridelor în hepatocite. Se deosebesc două forme ale steatozei: microveziculară şi macroveziculară. Mai frecvent se întâlneşte steatoza macroveziculară caracterizată prin formarea unei macrovezicule care deplasează nucleul spre periferie. În caz de continuare a administrării preparatului survine necroza hepatocitelor. La baza steatozei macroveziculare stau următoarele mecanisme: stimularea sintezei acizilor graşi şi trigliceridelor din acizii graşi; diminuarea eliminării trigliceridelor din hepatocite. Steatoza macroveziculară este caracteristică preponderent pentru abuzul de alcool. Steatoza microveziculară se depistează rar şi se prezintă prin microvezicule cu conţinut de trigliceride ce nu deplasează nucleul şi se consideră o variantă periculoasă a hepatotoxicităţii (Grattagliano I et al., 2009, Пентюк А.А. и др. 2001, Шульпекова Ю.О., 2007, Бабак О.Я., 2008).

Steatoza microveziculară se dezvoltă preponderent în urma deficitului betaoxidării acizilor graşi în mitocondrii. Dereglarea acestui proces micşorează formarea acetil-CoA, care este sursa principală de energie (ATP) în celulă, precum şi contribuie la esterificarea acizilor graşi în citoplasmă până la trigliceride cu acumularea lor (Пентюк А.А. и др. 2001, Ковтун А.В. и др., 2011). Steatoza microveziculară poate fi indusă de alcool, acidul acetilsalicilic, tetracicline, isoniazidă, ticlopidină, hidrazină, amineptină, tianeptină, amiodaronă, perhexilină, acidul orotic, preparatele acidului nicotinic, estrogenii sintetici, didanozină, lamivudină, acidul valproic, acizii biliari, preparatele antiretrovirale (Пентюк А.А. и др. 2001, Степанов Ю.М. и др., 2005, Бабак О.Я., 2008).

Amiodarona provoacă în 15-55% cazuri steatoză micro- şi macroveziculară până la ciroză cu deces (Пентюк А.А. и др. 2001, Степанов Ю.М. и др., 2005). Preparatul se acumulează în mitocondrii şi nu numai că inhibă oxidarea acizilor graşi cu dezvoltarea steatozei, dar dereglează şi transportul electronilor în lanţul respirator cu iniţierea POL şi instalarea steatohepatitei (Степанов Ю.М. и др., 2005).

Steatoza microveziculară se constată la doze mari de tetraciclină, precum şi la utilizarea acidului acetilsalicilic în cadrul sindromului Reye (Степанов Ю.М. и др., 2005).

Acidul valproic poate fi responsabil de hepatotoxicitate la circa 1-2 % pacienţi relevată prin majorarea asimptomatică a transaminazelor, iar morfologic se caracterizează prin steatoză miciroveziculară. Preparatul inhibă beta-oxidarea acizilor graşi prin iepuizarea acizilor biliari şi carnitinei în urma concurenţei în mitocondrii cu enzimele şi cofactorii, ce uneori poate duce la afectarea fatală a ficatului. Hepatotoxicitatea acidului valproic mai poate fi explicată şi prin formarea metabolitului reactiv – acidul 2-propril-4 pentaenic cu participarea CYP 4B ce duce la diminuarea rezervelor de GSH redus, acetil-KoA (Пентюк А.А. и др. 2001).

Acidul valproic poate provoca rar fosfolipidoză, caracterizată prin acumularea complexelor fosfolipidă+medicament în lizozomii hepatocitelor, celulelor căilor biliare şi celulele Kupffer.

Ketoconazolul prin metabolitul său N-acetilketoconazol induce acumularea fosfolipidelor şi poate cauza afectarea gravă a ficatului (Пентюк А.А. и др. 2001).

Steatoza, îndeosebi macroveziculară, se consideră unul din marcherii universali ai acţiunii toxice (alcool, medicamente, substanţe toxice). Pe de o parte, ea duce la minimizarea funcţiilor hepatocitelor cu moartea lor la acţiunea de durată, iar pe de altă parte poate fi o reacţie compensatoare de reparaţie ce tinde să asigure menţinerea populaţiei de celule şi geometria organului. S-a demonstrat că chiar în cazul steatozei marcate se menţine un nivel destul de înalt al reacţiilor biosintetice în nucleu şi citoplasmă (Ивашкин В.Т. и др., 2009).

Hiperplazia reticului endoplasmatic este un marcher al intensificării metabolismului xenobioticelor care deseori se asociază cu reducerea funcţiei de sinteză a proteinelor ce poate fi un mecanism adaptiv de reorganizare a activităţii metabolice (Ивашкин В.Т. и др., 2009).

Estrogenii sintetici, amiodarona, acidul acetilsalicilic, co-trimoxazolul, antagoniştii calciului, clorochina, hidroxiclorochina şi preparatele antiretrovirale pot produce, de rând cu steatoza, şi steatohepatită. În acest caz, pe lângă inhibarea beta-oxidării acizilor graşi, se deregleazâ transportul electronilor în lanţul respirator al mitocondriilor, ceea ce duce la activarea POL şi dezvoltarea inflamaţiei secundare (Ключарева А.А., 2007).

**Apoptoza şi necroza** sunt principalele mecanisme ce determină moartea hepatocitelor între care actulamente nu se poate face o diferenţeire clară deoarece aceeaşi factori, de exemplu, SRO şi SRN, pot stimula ambele procese. Hepatotoxicele pot provoca moartea hepatocitelor atât prin apoptoză, cât şi prin necroză (de exemplu, paracetamolul, $CCl_4$ etc.), iar raportul dintre ele poate fi determinat de doza xenobioticului, utilizarea protectoarelor şi alţi factori.

**Apoptoza** se consideră moartea genetic programată a celulei. Acest proces se iniţiază prin receptorii speciali de pe suprafaţa celulei sau prin activarea cascadelor enzimatice şi a unor proteine care stopează activitatea mitotică a celulei (proteina p53), provoacă fragmentarea ADN-ului (endonucleaze) şi degradarea proteinelor (cascada enzimelor proteolitice specifice faţă de anumite proteine), deregleazâ relaţiile cu matricea extracelulară etc. Una din manifestările precoce ale apoptozei este micşorarea potenţialului electrochimic al membranei mitocondriale şi producerea de forme active ale oxigenului. Apoptoza morfologic se caracterizează prin formarea vacuolelor membranare, agregarea cromatinei în apropierea membranei nucleare, condensarea şi fragmentarea celulei cu apariţia corpilor apoptotici şi fagocitoza ulterioară. În apoptoză, de regulă, nu survine o reacţie inflamatoare marcată (Grattagliano I. et al., 2009, Пентюк А.А. и др. 2001).

Apoptoza poate fi indusă de medicamente prin două căi: intrinsecă şi extrinsecă. Calea intrinsecă este determinată de iniţierea de medicamente şi/sau metabolitul reactiv a semnalelor intracelulare cu o activare a cascadei de reacţii cu lezarea directă a ADN nuclear şi/sau mitocondrial. ADN unicatenar va stimula sistemele sensibile intracelulare şi va induce expresia efectorului p53. În cazul căii extrinseci, neoantigenii de suprafaţă vor influenţa receptorii de pe membrana hepatocitelor, iar interacţiunea acestora cu liganzii, precum TNFalfa sau Fas, va activa celulele T-citotoxice şi celulele neparenchimatoase ale ficatului cu eliberarea citochinelor, care vor provoca moartea receptorilor pe suprafața celulelor (Grattagliano I. et al., 2009).

La acțiunea dozelor subtoxice de xenobiotice are loc influența asupra hepatocitelor cu afectarea mitocondriilor, depleția ATP, iepuizarea antioxidanților, oxidarea lipidelor și proteinelor, dereglarea homeostazei calciului, care inițiază apoptoza. Concomitent, medicamentele pot activa celulele Kupffer care vor elibera citochinele proinflamatoare (IL-1 beta, TNF-alfa), ce vor amplifica procesele patologice în hepatocite; vor contribui la formarea SRO; vor produce factorul endotelial de creștere (EC-GF) cu activarea și proliferarea celulelor endoteliale și eliberarea de SRO și SRN ce vor intensifica mecansimele de apoptoză ale hepatocitelor; vor determina prin SRO și factorul beta de transformare a creșterii (TGF-beta) activarea celulelor Ito (stealte) cu inducerea fibrozei (*fig.1.1.3*) (Grattagliano I. et al., 2009).

Mecanismele inițierii apoptozei nu sunt definitivate, dar, posibil, momentul cheie revine mecanismului receptor independent prin inițierea factorilor nespecifici – NO, SRO etc., molecule capabile să lezeze macromoleculele celulare și fără apoptoză. Un rol important îi revine NO nu numai prin faptul că formarea lui crește la utilizarea hepatotoxicelor, dar și prin interacțiunea cu radicalul superoxid cu producerea peroxinitritului ($NO+O_2^- \rightarrow ONOO^-$) ce lezează structurile membranare cu nitrozilarea lor și inițierea apoptozei. Aminoguanina, inhibitor al NOS, preîntâmpină afectarea hepatică indusă de $CCl_4$, paracetamol. Apoptoza este stimulată și de SRO în urma stresului oxidativ și ca produse catalitice ale reacțiilor cu participarea citocromului P-450, NOS, NADP-reductazei, diaforazei și altor enzime sau cu participarea metaboliților semichinonici ai xenobioticelor în reacțiile de transport al unui electron cu oxigenul, precum și ca rezultat al activării macrofagelor (Grattagliano I. et al., 2009, Чиркин А.А.,2000, Пентюк А.А. и др. 2001).

**Apoptoza indisă prin colestază.** Acumularea bilei în hepatocite în colestază se asociază cu apoptoza celulelor ficatului. Acizii biliari hidrofobi manifestă hepatotoxicitate marcată și se acumulează în maladiile asociate cu colestaza. În cultura de hepatocite s-a demonstrat că în concentrații mari acizii biliari hidrofobi inițiază apoptoza confirmată prin condensarea celulelor și nucleului, fragmentarea nucleului, activarea caspazelor, fragmentarea ADN, esternalizarea fosfatidilserinei. Acest model a permis de a diferenția mecanismele apoptozei „netoxice" și rolul apoptozei în AMF (Залесский В.Н., Дынник О.Б., 2006).

**Necroza** se caracterizează inițial prin afectarea membranei citoplasmatice cu dereglarea homeostazei ionilor și edemul mitocondriilor și celulei. Ulterior are loc degradarea nucleului cu fagocitoza hepatocitelor moarte de către celulele inflamatoare. Moartea hepatocitelor se soldează cu lezarea țesuturilor și dezvoltarea unui proces inflamator activ. Cauzele nemijlocite ale necrozei sunt: stresul oxidativ și POL; cuplarea metaboliților toxici cu macromoleculele biologic active; afectarea mitocondriilor și dereglarea producerii energiei; lezarea citoscheletului; creșterea masivă a concentrației calciului în celulă; activarea enzimelor de degradare etc. (Grattagliano I. et al., 2009, Чиркин А.А.,2000).

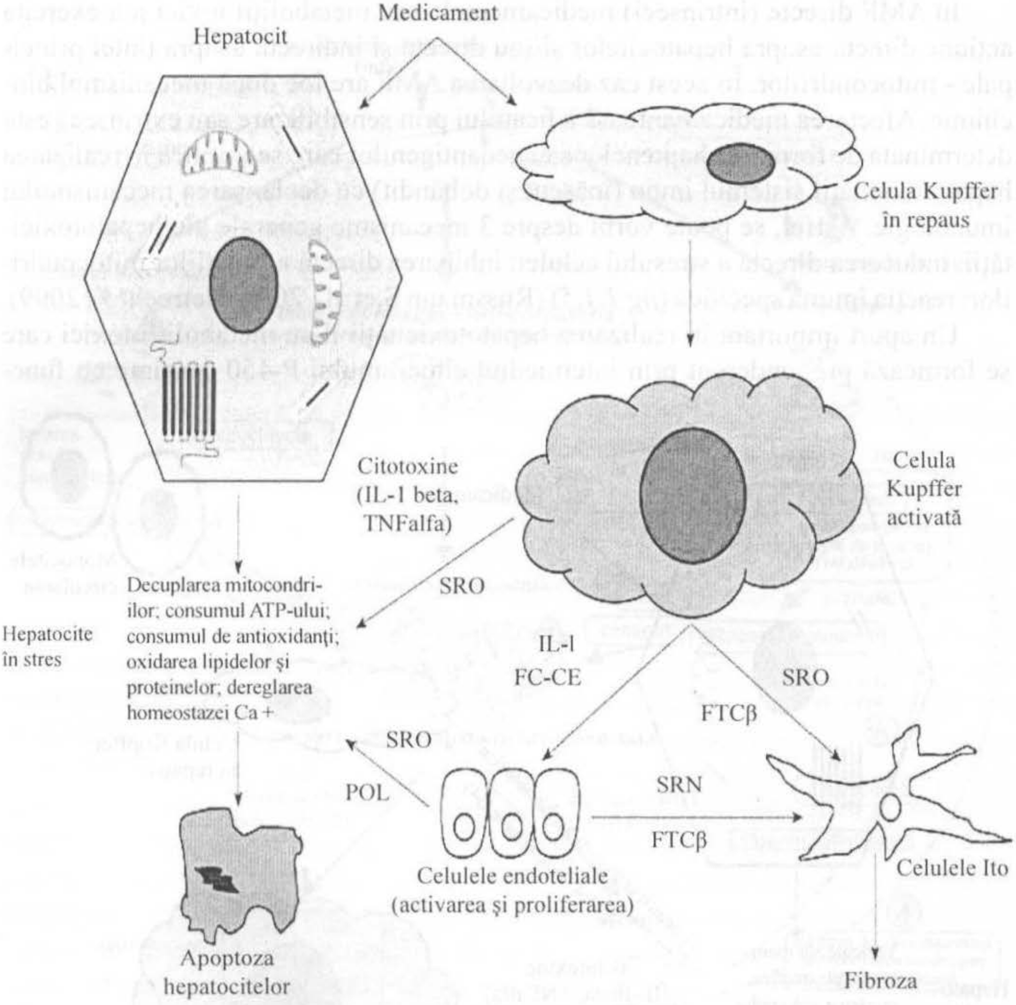

Medicament
Hepatocit
Celula Kupffer în repaus
Celula Kupffer activată
Citotoxine (IL-1 beta, TNFalfa)
SRO
Hepatocite în stres
Decuplarea mitocondriilor; consumul ATP-ului; consumul de antioxidanţi; oxidarea lipidelor şi proteinelor; dereglarea homeostazei Ca +
IL-l
FC-CE
SRO
FTCβ
SRO
POL
SRN
FTCβ
Celulele endoteliale (activarea şi proliferarea)
Celulele Ito
Apoptoza hepatocitelor
Fibroza

**Fig.1.1.3 Acţiunea dozelor subtoxice de hepatotoxice**
(după Grattagliano I et al., 2009).

La dozele mari de toxice se constată: modificări ale citoscheletului cu dereglarea permeabilităţii membranelor şi gradientului osmotic cu dezvoltarea edemului celulei şi mitocondriilor; perturbarea potenţialului electric şi gradientului ionic; afectarea reticulului endoplasmatic cu eliberarea enzimelor lizozomale; formarea metaboliţilor toxici cu creşterea producerii SRO şi SRN; iniţierea peroxidării lipidelor şi proteinelor cu iepuizarea nivelului antioxidanţilor (GSH etc.); activarea chemotaxisului (lipopolizaharidelor, $LTB_4$). În aceste condiţii are loc activarea celulelor Kupffer, iar acestea activează celulele endoteliale ce cresc şi mai mult nivelul SRO şi SRN cu lezarea hepatocitelor şi dezvoltarea necrozei (*fig 1.1.4*) (Grattagliano I. et al., 2009)

În AMF directe (intrinseci) medicamentele sau metaboliţii toxici pot exercita acţiune directă asupra hepatocitelor şi/sau directă şi indirectă asupra ţintei principale - mitocondriilor. În acest caz dezvoltarea AMF are loc după mecanismul biochimic. Afectarea medicamentoasă a ficatului prin sensibilizare sau extrinsecă este determinată de formarea haptenelor sau neoantigenilor care se implică în realizarea hepatotoxicităţii sistemul imun (înăscut şi dobândit) cu declanşarea mecanismului imunologic. Astfel, se poate vorbi despre 3 mecanisme generale ale hepatotoxicităţii: inducerea directă a stresului celulei; inhibarea directă a funcţiilor mitocondriilor; reacţia imună specifică (*fig.1.1.5*) (Russmann S.et al., 2009, Uetrecht J., 2009).

Un aport important în realizarea hepatotoxicităţii îl au metaboliţii toxici care se formează preponderent prin intermediul citocromului P-450 (enzime cu func-

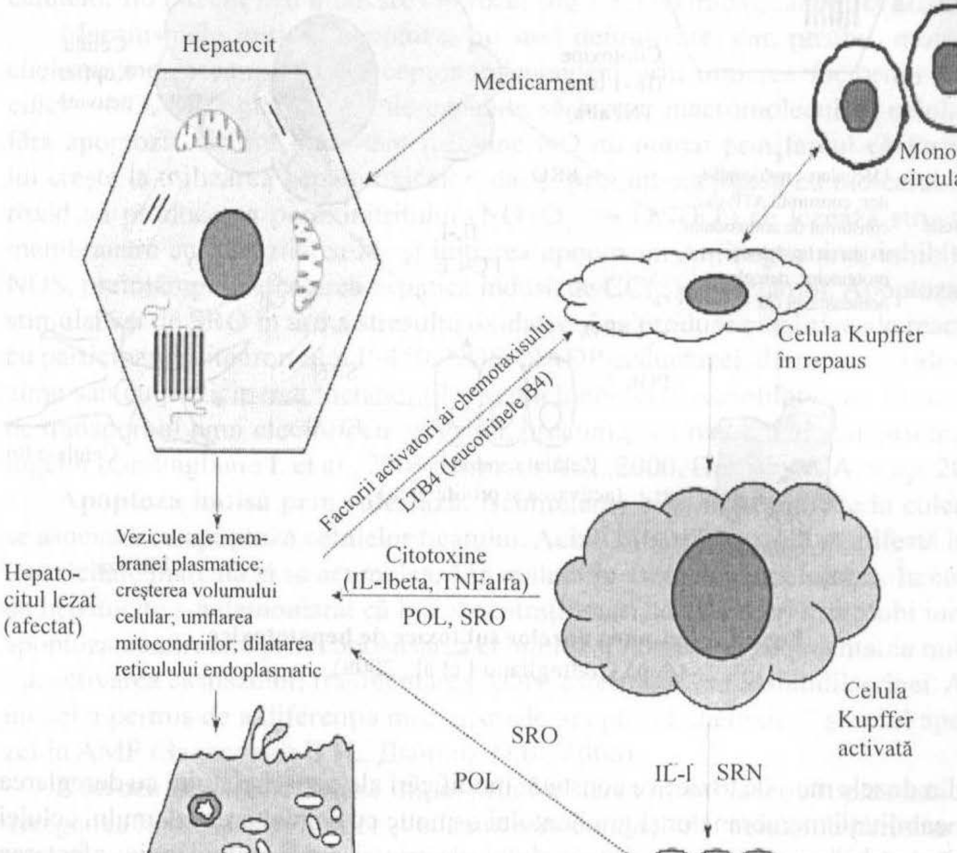

Hepatocit
Medicament
Monocitele circulante
Celula Kupffer în repaus
Factorii activatori ai chemotaxisului
LTB4 (leucotrinele B4)
Vezicule ale membranei plasmatice; creşterea volumului celular; umflarea mitocondriilor; dilatarea reticulului endoplasmatic
Hepatocitul lezat (afectat)
Citotoxine (IL-Ibeta, TNFalfa)
POL, SRO
Celula Kupffer activată
SRO
POL
IL-I SRN
Necroza hepatocitului
Celulele endoteliale (activarea)

**Fig. 1.1.4 Acţiunea dozelor toxice de hepatotoxice cu inducerea necrozei**
(după Grattagliano I et al., 2009)

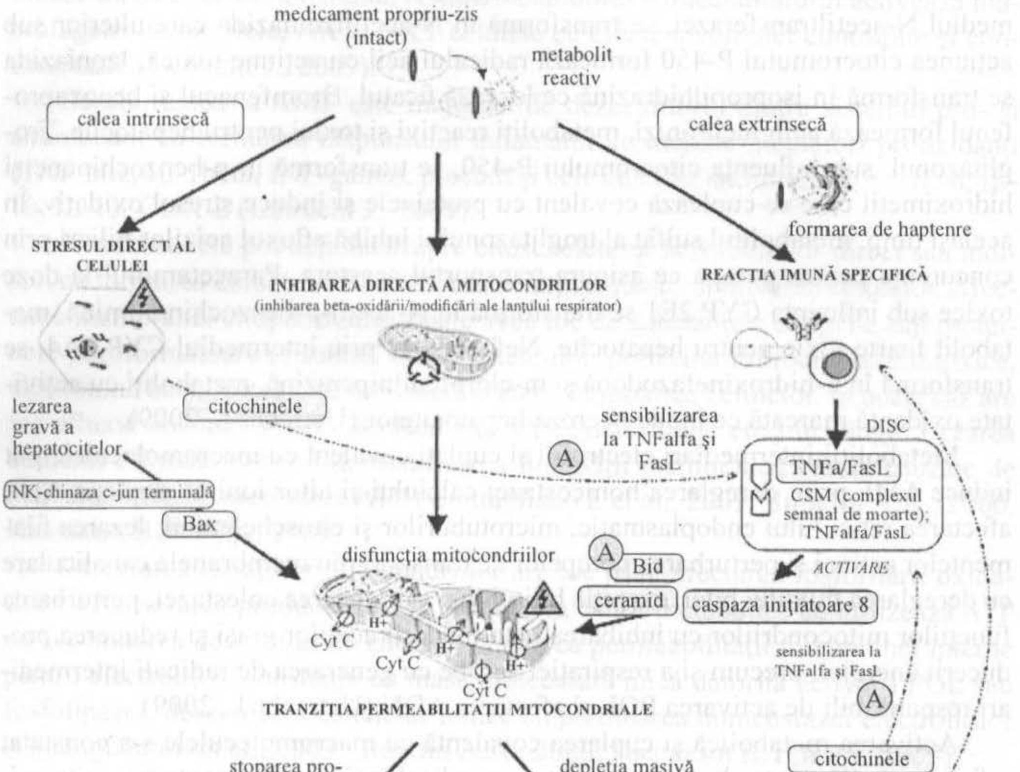

medicament propriu-zis
(intact)
metabolit
reactiv
calea intrinsecă
calea extrinsecă
formarea de haptenre
STRESUL DIRECT AL
CELULEI
INHIBAREA DIRECTĂ A MITOCONDRIILOR
(inhibarea beta-oxidării/modificări ale lanţului respirator)
REACŢIA IMUNĂ SPECIFICĂ
lezarea
gravă a
hepatocitelor
citochinele
sensibilizarea
la TNFalfa şi
FasL
A
DISC
JNK-chinaza c-jun terminală
TNFa/FasL
CSM (complexul
semnal de moarte);
TNFalfa/FasL
Bax
disfuncţia mitocondriilor
A
Bid
ACTIVARE
ceramid
caspaza iniţiatoare 8
H+
Cyt C
Cyt C
H+
Cyt C
H+
Cyt C
sensibilizarea la
TNFalfa şi FasL
A
TRANZIŢIA PERMEABILITAŢII MITOCONDRIALE
citochinele
stoparea pro-
ducerii de ATP
depleţia masivă
a ATP-ului
răspuns inflamator
A
APOPTOSOME
(ATP,
citocromC,
Apaf-1) -V.y
NECROZA
captarea de către macrofagi
şi prezentarea neoantigen
MHC-dependentă
ACTIVARE
Caspaze 9
ACTIVARE
caspazele efectoare 3,6,7
APOPTOZA

**Fig. 1.1.5 Mecanismele generale ale hepatotoxicităţii**
(după Russmann S.et al., 2009).

ţii oxidative mixte) şi/sau enzimele ce asigură conjugarea. Izoniazida, prin intermediul N-acetiltransferazei, se transformă în N-acetilizoniazidă care ulterior sub acţiunea citocromului P-450 formează radicalul acil cu acţiune toxică. Izoniazida se transformă în isopropilhidrazină ce lezează ficatul. Bromfenacul şi benoxaprofenul formează acilglucuronizi, metaboliţi reactivi şi toxici pentru hepatocite. Troglitazonul, sub influenţa citocromului P-450, se transformă în p-benzochinone şi hidroximetil care se cuplează covalent cu proteinele şi induce stresul oxidativ. În acelaşi timp, metabolitul sulfat al troglitazonului inhibă efluxul acizilor biliari prin concurenţa pentru pompa ce asigura transportul acestora. Paracetamolul la doze toxice sub influenţa CYP 2E1 se transformă în N-acetil-p-benzochinonimină, metabolit foarte toxic pentru hepatocite. Nefazodona, prin intermediul CYP 3A4, se transformă în p-hidroxinefazodonă şi m-clorofenilpiperazină, metaboliţi cu activitate oxidantă marcată ce induc necroza hepatocitelor (Uetrecht J., 2009).

Metaboliţii intermediari electrofili şi cuplaţi covalent cu macromoleculele pot induce AMF prin: dereglarea homeostazei calciului şi altor ioni cu depleţia ATP; afectarea reticulului endoplasmatic, microtuburilor şi citoscheletului; lezarea filamentelor actinei şi perturbarea pompelor de transport din membranele canaliculare cu dereglarea fluxului bilei, excreţia bilirubinei şi inducerea colestazei; perturbarea funcţiilor mitocondriilor cu inhibarea beta-oxidării acizilor graşi şi reducerea producerii energiei, precum şi a respiraţiei aerobe cu generarea de radicali intermediari responsabili de activarea POL şi afectarea ADN (Uetrecht J., 2009).

Activarea metabolică şi cuplarea covalentă cu macromoleculele s-a constatat a fi importantă pentru hepatotoxicitatea amodiachinei, benzbromaronei, eritromicinei, flutamidului, nevirapinei, tacrinei, acidului valproic, zafirlucastului şi zomepiracului (Uetrecht J., 2009).

Disfuncţia mitocondriilor, stresul oxidativ şi micşorarea GSH s-au dovedit a fi implicate în hepatotoxicitatea provocată de: nimesulid, telitromicină, nefazodonă, troglitazon, tetraciclină, sulindac, zileuton, labetalol, diclofenac, clorzoxazonă, dandrolen, perhexilină (Uetrecht J., 2009).

Mecanismul imunologic, caracteristic pentru reacţiile de hipersensibilitate (idiosincrazice), se poate asocia cu disfuncţia şi moartea hepatocitelor prin implicarea sistemului imun înnăscut şi dobândit. Imunitatea dobândită în majoritatea cazurilor de AMF se manifestă şi prin alte reacţii de hipersensibilitate. Astfel, halotanul, acidul tienilic, dihidralázina, diclofenacul şi carbamazepina sunt implicate în imunitatea dobândită prin formarea haptenelor, neoantigenilor. Se expune ipoteza că unele medicamente pot stimula, prin influenţă directă şi/sau metaboliţi, activitatea celulelor T (Uetrecht J., 2009).

Macrofagele tisulare, leucocitele polimorfonucleare (neutrofilele, eozinofilele, bazofilele), chilerii naturali (NK-celulele) şi celulele chiler naturale cu receptori ai celulelor T (NKT-celulele) asigură un răspuns non-specific de protecţie cu eliberarea unor peptide (antimicrobiene, citochine) şi activarea fagocitozei etc. Celulele hepatice cu imunitate înnăscută dezvoltă un proces inflamator în AMF, inclusiv induse de paracetamol, halotan. Astfel, metabolitul paracetamolului activează macrofagele, neutrofilele, NK și NKT celulele cu efecte incomplet cunoscute și controversate (Uetrecht J., 2009).

Sensibilitatea la AMF este majorată de dezechilibrul dintre sistemul pro- și antioxidant cu formarea răspunsului inflamator ce include mediatori prooxidanți (TNF-alfa, IL-1beta, INF-gama), precum și cele cu efect antiinflamator – IL-6, IL-10, IL-13, COX-2 (Uetrecht J., 2009).

Xenobioticele pot acționa asupra citoscheletului hepatocitelor direct sau indirect cu formarea defectelor în membrana citoplasmatică și moartea celulelor. Afectarea membranei citoplasmatice poate avea loc de substanțele exogene sau proteinele poroformatoare (sistemul complementului, perforina limfocitelor citotoxice, alfa-toxina bacteriilor) și se consideră o etapă în moartea celulelor. În acest caz are loc efluxul enzimelor din citoplasmă (AsAT, AlAT, LDH etc.) în sânge. Lezarea stratului bilipidic determină modificarea fluidității membranei, efecte cauzate de activarea POL și micșorarea ATP (Grattagliano I. et al., 2009, Чиркин А.А., 2000, Ивашкин В.Т. и др., 2009).

Dereglarea funcțiilor mitocondriilor are loc prin: afectarea fosforilării oxidative cu micșorarea producerii ATP; stimularea căilor metabolice ce utilizează ATP cu accentuarea deficitului de energie; creșterea permeabilității membranei interne pentru electroliți și substanțe cu masă moleculară mică datorită activării POL sau fosfolipazei; deschiderea canalelor ionice cu pertubarea homeostazei electroliților (Grattagliano I. et al., 2009, Чиркин А.А., 2000, Ивашкин В.Т. и др., 2009).

Perturbările homeostazei în mitocondrii (creșterea sodiului, calciului și micșorarea potasiului) este unul din semnele precoce ale citotoxicității medicamentelor sau toxicelor. Efluxul potasiului este unul din semnele precoce ale lezării mitocondriilor. Un rol important revine ionilor de calciu, concentrația intracelulară a cărora crește datorită eliberării din reticulul endoplasmatic și influxului în celulă cu activarea proteinchinazelor, fosfolipazei și endonucleazei, dereglarea funcțiilor mitocondriilor și afectarea citoscheletului. Moleculele reactive ale medicamentelor pot afecta ATP-aza calciu-dependentă prin cuplarea covalentă sau oxidarea grupelor tiolice (SH) a proteinelor sau peroxidarea lipidelor ce înconjoară enzima. Majorarea concentrației calciului este unul din mecanismele hepatotoxicității paracetamolului și $CCl_4$ (Grattagliano I et al., 2009, Чиркин А.А., 2000).

Activarea enzimelor (proteaze, endonucleaze, fosfolipaze etc.), implicate în degradarea substanțelor endogene, contribuie la lezarea membranelor, eliberarea acidului arahidonic sau fragmentarea ADN. Există corelație între moartea celulelor și intensitatea proteolizei nelizozomale. Micșorarea ATP-ului crește activitatea proteazelor nelizozomale ceea ce contribuie și la formarea neoantigenelor (Чиркин А.А., 2000).

Formarea radicalilor liberi și metaboliților reactivi sunt mecanisme importante ale lezării celulelor. Speciile reactive ale oxigenului se produc la stimularea celulelor Kupffer și neutrofilelor polimorfonucleare. Xantinoxidaza citozolică generează radicalul superoxid în urma depleției ATP indusă de stresul oxidativ. Ciclooxigenaza-2 și lipooxigenaza în procesul de sinteză a prostaglandinelor și leucotrienelor de asemenea pot produce radicalul singlet și superoxid. Ultimul se formează și în mitocondrii, microzomi și peroxizomi, reticulul endoplasmatic în urma funcționării monooxigenazelor. În mediul hidric acești radicali sunt puțin activi și capabili să difuzeze, iar cu participarea SOD rapid se transformă în peroxid de hidrogen. În reacțiile catalizate de metale (Fe etc.) se poate forma radicalul hidroxil, foarte reactiv și cu o capacitate mică de difuzie ce afectează nucleotide, aminoacizi și lipide. La atacul acizilor grași ai fosfolipidelor membranare se declanșează POL. Afectarea moleculelor de ADN în procesul inflamator cronic poate contribui la dezvoltarea tumorilor hepatice. Datele literaturii relevă că in afectarea hepatocitelor sunt implicați radicalii superoxid, hidroxil, singlet, peroxidici, hipoclorit, peroxidul de hidrogen, cloraminele (Чиркин А.А., 2000).

Stresul oxidativ poate determina dezechilibru dintre sistemul pro- și antioxidant (SOD, catalaza, GPx, GST etc.). Astfel, SOD contribuie la trecerea radicalului superoxid în peroxidul de hidrogen, iar acesta este inactivat de GPx și catalază. Glutationperoxidaza și GST participă la eliminarea și altor radicali. La dezvoltarea patologiei hepatice în ser se pot acumula substanțe cu proprietăți antioxidante ca acidul uric, bilirubina, albumina etc. (Чиркин А.А., 2000).

În reacțiile stresului oxidativ și mecanismele protecției antioxidante participă și NO, ce se formează în urma trecerii L-argininei în L-citrulină sub acțiunea NOS în hepatocite, celulele Kupffer și endoteliale. Interacțiunea NO cu SH-grupele proteinelor generează S-nitrozoalbumină (depo extracelular de NO) și S-nitrozoglutation (depo intracelular de NO), dar care pot afecta membrana celulară. Monoxidul de azot prin interacțiunea cu metalele hemoproteinelor (citocromului P-450) poate modifica funcția lor. Mecanismele primare de acțiune a NO sunt determinate de cuplarea cu guanilatciclaza cu majorarea GMPc. Concomitent, NO poate stimula ADP-ribozilarea proteinelor, inclusiv a gliceroldehidrofosfat-dehidrogenazei cu afectarea energeticii celulelor sau a actinei ce inhibă polimerizarea ei și modificarea funcțiilor citoscheletului.

Monoxidul de azot acționează ca captator al SRO, dar poate și amplifica efectele radicalului superoxid, formând peroxinitrit ($ONOO^-$) cu eliberarea radicalului hidroxil și activarea POL (Чиркин А.А., 2000).

Un important mecanism al hepatotoxicității xenobioticelor îl constituie formarea metaboliților activi capabili să se cupleze covalent cu macromoleculele hepatocitelor. De exemplu, metabolitul paracetamolului formează aducți cu proteinele tiolice membranare ce reglează homeostaza calciului cu creșterea concentrației lui intracelulare și moartea celulelor (Чиркин А.А.,2000, Пентюк А.А. и др. 2001).

Sistemul citocromului P-450 cel mai frecvent este implicat în formarea metaboliților toxici. Concomitent și alte enzime pot fi responsabile de acest mecanism. De exemplu, alcooldehidrogenaza catalizează transformarea alcoolului alilic în acroleină, aldehidă nesaturată, ce induce stresul oxidativ, micşorează rezervele de GSH şi blochează SH-grupele proteinelor (Пентюк А.А. и др. 2001).

Metaboliţii toxici se pot forma şi în procesele de conjugare. Astfel, hepato- şi nefrotoxicitate pot manifesta acilglucuronizii multor antiinflamatoare nesteroidiene. De exemplu, acilglucuronidul diflunisalului uşor intră în reacţie de transacilare şi covalent se cuplează cu proteinele ficatului cu formarea aducturilor de tip proteină-medicament (Пентюк А.А. и др. 2001).

Unele medicamente pot produce hepatotoxicitate combinată toxico-alergică. Astfel, halotanul, sub acţiunea CYP 2B1, 2E1, 1A2, se supune dehalogenării reductive în condiţii anaerobe cu formarea de radicali liberi şi produse intermediare care exercită efect toxic direct sau indirect prin activarea formării SRO şi POL. Metabolismul oxidativ al halotanului cu participarea CYP 2E1 şi altor monooxigenaze contribuie la producerea trifluorcloridului, compus foarte activ care interacţionează cu proteinele microzomale hepatice cu iniţierea POL. Prin efectul toxic direct asupra ficatului se explică majorarea imediat după anestezia cu halotan a transaminazelor la circa 1/3-1/5 din pacienţi. Uneori însă se dezvoltă o hepatită gravă în urma formării neoantigenilor (proteine trifluoracetilate ale reticulului endoplasmatic, enzime ce inactivează halotanul) depistate practic la toţi bolnavii expuşi la halotan, însă reacţii imune la ele se dezvoltă la o parte neconsiderabilă. În cazul anesteziei repetate cu preparat poate creşte hepatotoxicitatea lui, iar sexul feminin, obezitatea (creşterea activităţii CYP 2E1), inducţia enzimelor metabolismului şi predispoziţia genetică sunt alţi factori de risc ai hepatotoxicităţii halotanului (Пентюк А.А. и др. 2001).

Necroza hepatocitelor are unele particularităţi topografice din care motive evidenţiază necrozele hepatocitelor zonei I şi III a acinusurilor. Hepatocitele zonei I (periportale) sunt adiacente tractului portal şi primesc o cantitate mai importantă de oxigen şi substanţe nutritive spre deosebire de zonele II şi, îndeosebi, III. În hepatocitele periportale se disting mitocondrii mari în care au loc intens procesele energetice, inclusiv beta-oxidarea acizilor graşi, metabolismul aminoacizilor şi sinteza ureei, gluconeogeneza. Necroza zonei I este caracteristică pentru alcoolul alilic, lindan, cocaină, vitamina A, fier etc., toxice care exercită preponderent acţiune directă ce nu necesită formarea metaboliţilor reactivi. În acest caz hepatocitele din această zonă primele contactează cu vena portă care conţine toxicele respective (Чиркин А.А.,2000, Пентюк А.А. и др. 2001).

Hepatocitele zonei III (perivenoase) conţin mai puţine mitocondrii, dar sunt mai bogate în reticul endoplasmatic şi aici predomină glicoliza, lipogeneza şi procesele de oxidare şi conjugare a xenobioticelor, (Чиркин А.А.,2000). Concomitent se depistează un dezechilibru dintre producerea metaboliţilor toxici şi degradarea lor, deoarece GPx (asigură conjugarea cu acidul glucuronic, GSH, sulfat) este mai puţin activă ca citocromul P-450. Din aceste considerente, xenobioticele mai frecvent afectează hepatocitele zonei III, inclusiv cea inflamatoare şi ischemică, provocând necroza centrolobulară. Acest tip de necroză este caracteristic pentru majoritatea hepatotoxicelor ($CCl_4$, cloroform, halotan, etilmetilnitrozamină, brombenzen, paracetamol, cumarină, metimazol, nimesulid etc.) (Пентюк А.А. и др. 2001).

Aceste particularităţi doar parţial explică localizarea necrozei, deoarece în multe cazuri preparatul (de exemplu, alcoolul alilic) va fi metabolizat şi în hepatocitele zonei I şi III (alcooldehidrogenaza) sau şi în zona III (cocaina sub acţiunea citocromului P-450).

Necroze ale zonei II se pot constata comparativ mai rar (de exemplu, concanavalina A, endotoxinele microbiene în asociere cu alcoolul).

Necroza hepatocitelor, în funcţie de doza toxicului şi gradul de afectare, poate evolua de la majorarea asimptomatică a transaminazelor până la insuficienţa hepatică.

**Colestaza** este rezultatul dereglării producerii şi/sau eliminării bilei şi poate avea manifestări variate în funcţie de geneză. Astfel, deosebim colestază pură sau hepatită colestatică (dereglarea hepatocelulară a secreţiei bilei), colangită (obstrucţia ducturilor interacinare), colangiolită (obstrucţia canaliculilor mici) şi obstrucţia extrahepatică (colangita sclerozantă) (Dumbrava V.T. şi coaut., 2004, 2010, David S, Hamilton J.P., 2010, Пентюк А.А. и др. 2001, Ушкалова Е.А., 2003, 2007, Шульпекова Ю.О., 2007, Буеверов А.О., 2008).

David S. şi Hamilton J.P (2010) evidenţiază AMF cu implicarea căilor biliare ca fiind acute şi cronice. Afectarea colestatică acută se manifestă prin: colestază uşoară cauzată de dereglarea secreţiei bilei fără afectare hepatocelulară; hepatita colestatică (colestaza cu lezarea parenchimului hepatic); colangită. Colestaza cronică poate fi indusă prin: obliterarea canaliculelor biliare (sindromul ducturilor absente) şi obstrucţie biliară extrahepatică (colangita sclerozantă secundară).

La baza colestazei stau: lezarea membranelor canaliculare şi citoscheletului; inhibarea mecanismelor transportoare ATP-dependente; dereglarea funcţiei proteinelor transportoare a anionilor organici, acizilor biliari, P-glicoproteinei şi proteinelor rezitenţei multiple; perturbarea homeostazei calciului şi GSH în celule. De exemplu, rifampicina, ciclosporina, glibenclamida şi estrogenii inhibă transportul acizilor biliari ATP-dependent. Colestaza este asociată cu efluxul în bilă şi sânge a proteinelor şi enzimelor membranelor - gama-glutamiltranspeptidazei (GGTP) şi fosfatazei alcaline (FAl) ce au importanţă diagnostică (Пентюк А.А. и др. 2001, Ушкалова Е.А., 2003, 2007, Шульпекова Ю.О., 2007, Буеверов А.О., 2008).

Inductori tipici ai colestazei sunt estrogenii sintetici şi steroizii cu substituţie în poziţia 17 (anticoncepţionalele orale, anabolicele steroidiene) şi se manifestă prin colestază canaliculară. În acest caz lipsesc semnele de hipersensibilitate sistemică şi de afectare a hepatocitelor. Staza biliară este preponderent în canalicule din care cauză nu survine inflamaţia sau necroza. La suspendarea preparatului, simptomele dispar timp de 2 luni (Пентюк А.А. и др. 2001, Ушкалова Е.А., 2003, 2007, Буеверов А.О., 2010).

Printre mecanismele colestazei intralobulare (hepatocelulare şi canaliculare) se pot menţiona: micşorarea fluidităţii membranelor bazolaterale şi/sau canaliculare a hepatocitelor cu creşterea permeabilităţii lor; inhibarea $Na^{+}CH^{+}$-ATP-azei şi altor transportori membranari cu translocarea acestora de la polul biliar al hepatocitelor spre cel sinusoidal; afectarea citoscheletului hepatocitelor; dereglarea integrităţii şi funcţiilor canaliculelor (Ушкалова Е.А., 2003, 2007, Яковенко Э.П. и др., 2009).

Colestaza hepatocanaliculară (parenchimatoasă-canaliculară) se dezvoltă ca rezultat al reacţiei de hipersensibilitate şi se caracterizează prin inflamaţie portală şi afecţiune secundară a canaliculelor. Astfel de colestază se poate constata la administrarea clorpromazinei (aminazinei), amiodaronei, proproxifenului, propafenonei, piroxicamului, diclofenacului, inhibitorilor enzimei de conversie (captopril, enalapril, lizinopril etc.), anabolizantelor steroidiene şi hormonilor sexuali. Clorpromazina şi metaboliţii ei modifică formarea bilei prin afectarea membranelor canaliculare şi $Na^{+}CH^{+}$-ATP-azei. La baza acestei colestaze (constatată la sub 2% pacienţi) stă mecanismul imunologic confirmat de instalarea în prima lună de tratament şi dispariţia rapidă a simptomelor după suspendarea tratamentului. O colestază similară se poate dezvolta şi la utilizarea antidepresivelor triciclice, eritromicinei estolat (Пентюк А.А. и др. 2001, Ушкалова Е.А., 2003, 2007).

Colestaza indusă de steroizi nu este urmată de o inflamaţie hepatocelulară marcată, majorarea transaminazelor şi are o evoluţie lentă care dispare după suspendarea preparatului. Se consideră că colestaza în acest caz este determinată, posibil, de efectul fiziologic al steroizilor (îndeosebi estrogenilor) relevat prin intensificarea formării bilei. Drept confirmare a acestei ipoteze serveşte colestaza în timpul graviditătii. Astfel, dacă în această perioadă fiziologică va surveni colestaza, ea se va manifesta şi la utilizarea anticoncepţionalelor hormonale şi invers (Ушкалова Е.А., 2003, 2007).

Mecanismul hepatitei colestatice indus de inhibitorii enzimei de conversie este cauzat de hipersensibilitatea idiopatică şi modificările metabolismului eicosanoizilor. Hepatită colestatică pot provoca ticlopidina, ranitidina, azatioprina şi alte antitumorale, statinele (simvastatina, pravastatina), ciclosporina, terbinafina. Colestază cu simptome de hipersensibilitate pot induce penicilinele, acidul clavulanic, eritromicina şi alte macrolide (Пентюк А.А. и др. 2001).

În dezvoltarea colestazei extralobulare (ductulare) pot fi implicate următoarele mecanisme: lezarea epiteliului ducturilor biliare şi dereglarea conductibilităţii lor; perturbarea metabolismului acizilor biliari cu secreţia lor în sânge prin membrana bazolaterală; modificarea componenţei acizilor biliari cu creşterea conţinutului celor toxici – litocolic şi dezoxicolic (Ушкалова Е.А., 2003, 2007, Яковенко Э.П. и др., 2009).

În colestază survin şi un şir de dereglări hepatice, precum: afectarea membranelor celulare, inclusiv a mitocondriilor (în urma acţiunii detergente a acizilor biliari); blocada sintezei ATP; majorarea concentraţiei citozolice a calciului; activarea hidrolazelor intracelulare; necroza hepatocitelor; activarea fibrogenezei; inițierea expresiei antigenilor clasei I HLA cu predispoziție la afecțiuni imune; activarea POL (Яковенко Э.П. и др., 2009).

**Afectarea vaselor hepatice.** Unele medicamente pot afecta vasele prin: proliferarea intimei; tromboza venelor hepatice secundar proliferării intimei (sindromul Badda-Kiari); ocluzia venulelor hepatice ( boala veno-ocluzivă) (Степанов Ю.М. и др., 2005, Щульпекова Ю.О., 2007).

***Maladia veno-ocluzivă.*** Este o afecțiune gravă caracterizată prin tromboza venulelor hepatice eferente cu dezvoltarea necrozei centrolobulare și dereglarea efluxului sangvin și progresarea cirozei congestive. Boala progresează rapid cu dezvoltarea insuficienței hepatice. Se consideră că medicamentele afectează preponderent selectiv celulele endoteliale sinusoidale. Maladia veno-ocluzivă histologic se caracterizează prin lezarea preponderentă a acinusurilor zonei III și în jurul venei centrale, iar patogenetic un rol important îl au reacția inflamatoare și activarea coagulării sângelui. Marcheri ai bolii sunt interleuchinele inflamatoare, proteinele fazei acute și factorii de coagulare. Medicamentele responsabile de dezvoltarea maladiei veno-ocluzive sunt ciclofosfamida, azatioprina, busulfanul, melfalanul, tiotepul și etopozida. Utilizarea citostaticelor este o problemă severă în terapia imunosupresivă în transplantul măduvei spinării (o frecvență de 27-28%), deoarece pot necesita intervenții chirurgicale de urgență, transplantul hepatic și pot fi cauza decesului (Пентюк А.А. и др. 2001).

Maladia veno-ocluzivă poate fi provocată și de alcaloizii pirolizidinici (monocrotalin, senecefilina, alcaloizii heliotropinei), obținuți din plante în unele țări din Africa, Orientul Apropiat și Asia Mijlocie, care se soldează cu afecțiuni grave ale ficatului (sindromul Badda-Kiari). Anticoncepționalele orale pot produce ocluzia venelor hepatice (sindromul Badda-Kiari) din cauza creșterii activității factorilor de coagulare (Пентюк А.А. и др. 2001).

Afecțiunile medicamentoase ale ficatului se pot caracteriza și prin lezarea sinusoidelor: dilatare (anticoncepționalele orale); fibroză perisinusoidală (azatioprina, vitamina A, citostaticele); pelioză, ductopenia (Щульпекова Ю.О., 2007).

***Pelioza*** se caracterizează prin formarea (în parenchimul hepatic) a unor cavități mari umplute cu sânge și acoperite cu celule sinusoidale. Această afecțiune poate fi indusă de anticoncepționalele orale, tamoxifen, androgeni, danazol, azatioprină, anabolizantele steroidiene, acidul ursodezoxicolic (Пентюк А.А. и др. 2001, Щульпекова Ю.О., 2007).

La utilizarea unor medicamente se poate constata ductopenia – sindromul de dispariție a ducturilor biliare. Această reacție se poate dezvolta la folosirea antibioticelor (ampicilină, amoxicilină, clindamicină, tetraciclină, eritromicină), antiprotozoicelor (trimetoprim, tiabendazol), antiepilepticelor (carbamazepină, fenitoină), barbituricelor, antipsihoticelor (clorpromazină, haloperidol), antidepresivelor (imipramină), steroizilor (estradiol, metiltestosteron), citostaticelor (azatioprină etc.), $H_2$-histaminoblocantelor (ranitidină etc.) (Щульпекова Ю.О., 2007).

**Inflamaţia.** Afecţiunile medicamentoase se pot manifesta prin inflamaţie mezenchimală şi infiltraţie celulară. Inflamaţia mezenchimală reflectă activarea celulelor stelate şi monocitelor de-a lungul sinusoidelor. Infiltrarea celulară se dezvoltă în zonele hepatocitelor moarte. În cazul afecţiunii mediate imunologic infiltratele conţin preponderent limfocite sau eozinofile şi limfocite (Щульпекова Ю.О., 2007).

La acţiunea hepatotoxicelor directe şi indirecte se pot dezvolta granuloame ca urmare a concentrării macrofagelor şi limfocitelor în focarele inflamaţiei cronice. Formarea granulomului este caracteristică pentru polivinilpirolidonă (substituent plasmatic cu masă moleculară mică) care se acumulează în celulele Kupffer.

**Fosfolipidoza** se caracterizează prin acumularea fosfolipidelor în hepatocite, proliferarea capilarelor biliare şi inflamaţia ductului portal. Mecanismul este bazat pe formarea complexelor între miceliile lipidice sau lipozomi şi medicamente. Interacţiunea dintre medicamente şi fosfolipide, posibil, modifică sarcina superficială a miceliilor sau lipozomilor, astfel că fosfolipidele nu le pot scinda.

**Fibroza** este caracteristică pentru majoritatea maladiilor hepatice şi se caracterizează prin depunerea colagenului în spaţiile Disse şi dereglarea fluxului sangvin în sinusoide cu dezvoltarea hipertensiei portale şi perturbarea funcţiilor hepatocitelor. Mecanismul fibrozei medicamentoase prevede la etapa iniţială necroza hepatocitelor cu dereglarea ulterioară a proliferării celulelor (micşorarea factorului beta de creştere). Un rol important în instalarea fibrozei le revine citochinelor, activării celulelor stelate şi inhibării activităţii proteinelor matrice.

Metotrexatul este unul din medicamentele tipice ce favorizează dezvoltarea fibrozei prin formarea sub influenţa sistemului monooxigenazic a metabolitului toxic. Fibroza hepatică se poate constata la circa 3-23% bolnavi cu artrită reumatoidă şi la 3-8% cu psoriazis, trataţi cu metotrexat. Determinarea proteinelor matrice, colagenului tip III şi IV, factorului beta de creştere în sânge pot fi parametrii sensibili ce vor indica despre dezvoltarea fibrozei hepatice sub tratament citostatic. Concomitent, la circa 33% pacienţi cu artrită reumatoidă, trataţi cu metotrexat, la care ulterior s-a dezvoltat fibroza, se va constata majorarea activităţii transaminazelor. Fibroză hepatică, de asemenea, pot provoca ciclofosfamida, azatioprina, metildopa, izoniazida, vitamina A, troglitazonul, heroina (Пентюк А.А. и др. 2001).

**Tumorile ficatului.** Estrogenii şi estrogen-progestativele pot produce hiperplazia nodulară a ficatului. Anticoncepţionalele orale, estrogenii şi danazolul la femeile de vârstă fertilă pot provoca adenomul hepatic, care se poate micşora sau dispărea după suspendarea preparatelor. La utilizarea de durată a anabolizantelor steroidiene şi androgenilor se poate dezvolta carcinomul ficatului. Estrogenii pot fi responsabili de dezvoltarea hemoblastozei, iar arseniul, clorura de vinil şi torotrastul – a angiosarcomului (Пентюк А.А. и др. 2001, Щульпекова Ю.О., 2007).

**Hepatita toxică** se dezvoltă în urma reacţiei idiosincrazice la xenobiotice şi este însoţită de manifestările de hipersensibilitate – febră, limfoadenopatie, erupţii, iar histologic se determină necroza difuză a hepatocitelor, prezenţa infiltratelor cu monocite și eozinofile cu păstrarea structurii ficatului (Пентюк А.А. и др. 2001, Бабак О.Я., 2008).

Hepatitele toxice mai frecvent sunt acute și uneori cronice. Izoniazida este un exemplu de hepatită toxică acută de tip idiosincrazic care se poate constata ca circa 1% din pacienți, deși creșterea activității transaminazelor se relevă la 15-20% bolnavi. Factorii de risc în acest caz pot fi utilizarea inductorilor citocromului P-450 (alcool, rifampicină), modificările metabolismului hepatic și predispoziția (Пентюк А.А. и др. 2001, Бабак О.Я., 2008).

Hepatotoxicitatea prin reacții de hipersensibilitate se poate manifesta și la utilizarea ciproteronului, ranitidinei, lovastatinei, metforminei, troglitazonului, antiinflamatoarelor nesteroidiene (diclofenac etc.). Hepatita toxică și colestaza, provocată de antiinflamatoarele nesteroidiene, au la bază formarea complexelor metaboliților acil-glucuronici cu proteinele plasmei și hepatocitelor, care, în calitate de imunogeni, inițiază citotoxicitatea celulelor T și anticorpilor la bolnavii sensibilizați. În aceste situații, hepatita toxică, indusă de diclofenac, se manifestă prin reacții sistemice de hipersensibilitate ce necesită utilizarea prednisolonului, iar uneori se constată decesul pacienților. Cazuri similare s-au constatat și la utilizarea fenitoinei și sulfasalazinei (Пентюк А.А. и др. 2001).

Reacțiile idiosincrazice la medicamente în unele cazuri (minociclina etc.) pot finaliza cu dezvoltarea hepatitei autoimune grave cu formarea anticorpilor față de ADN hepatic (Пентюк А.А. и др. 2001).

În tabelul 1.1.1 sunt expuse afecțiunile ficatului și medicamentele implicate în dezvoltarea lor.

*Tabelul 1.1.1*

**Medicamentele implicate în afecțiunile medicamentoase ale ficatului**

(după Tarantino G.et al., 2009, Dumbrava V.T. și coaut., 2004, 2010, Ушкалова Е.А., 2007, Шульпекова Ю.О., 2007, Буеверов А.О., 2008)

| Tipul afecțiunii medicamentoase a ficatului | Medicamentele implicate |
|---|---|
| **Afecțiuni acute** | |
| Hepatita fulminantă și insuficiența acută | Paracetamol, lamotrigina, izoniazida, claritromicina, carbamazepina, nimesulidul, levetiracetamul, extasi, halotanul, nitrofurantoina, propiltiouracilul, acidul valproic, flutamida, acidul nicotinic, metildopa, fluconazolul, chetoconazolul, fialuridina |
| Hepatita acută: dozodependentă | Paracetamol, salicilații, isoniazida, fenitoina, sulfamidele, disulfiram, dapson, halotan, metildopa, acidul valproic, |
| Hepatita acută: dozoindependentă | AINS (diclofenacul, indometacina, fenilbutazona, naproxenul, piroxicamul, sulindacul, ibuprofenul), beta-adrenoblocantele (acebutolol, labetalol, metoprolol), verapamil, chinidina, halotan, enfluran, carbamazepina, fenitoina, fenindiona, fenobarbital, acidul valproic, antidepresivele tricilcice, maprotilina, mianserina, fenelzina, alopurinol, dantrolen, cimetidina, ranitidina, sulfamidele, co-trimoxazol, penicilinele, ketoconazol, isoniazida, etionamida, pirazinamida, etambutol, PASC, brombenzol |

*Continuare tabelul 1.1.1*

| | |
|---|---|
| Steatoză hepatică acută | Corticosteroizii, fenitoina, salicilaţii |
| Steatoză macroveziculară | Glucocorticoizii, L-asparaginaza, metotrexat, minociclina, nifedipina, alcoolul (abuzul cronic) |
| Steatoză microveziculară | Amiodarona, acidul acetilsalicilic, azitomidina, fialuridina, metildopa, naproxen, tolmetin, ibuprofen, indometacina, sulindac, acidul valproic, tetraciclinele, ketoconazol, rifampicina, perhexilina, didanozina, zidovudina |
| Sindromul Badda-Kiari | Estrogenii |
| Hepatita ischemică | Acidul nicotinic, norepinefrina, fenilefrina, metilendioxiamfetamina |
| Hepatita granulomatoasă | Alopurinol, acidul acetilsalicilic, carbamazepina, clorpromazina, dapson, diltiazem, hidralazina, penicilinele, nitrofurantoina, fenilbutazona, fenitoina, pirazinamida, chinidina, procainamida, silfamidele, sulfasalazina |
| Colestaza intrahepatică | Amitriptilina, ampicilina, carbamazepina, clorpromazina, cimetidina, ranitidina, captopril, estrogenii, flucloxacilina, trimetoprim, sulfametoxazol, tiabendazol, tolbutamida |
| Colestază acută fără hepatită | Anticoncepţionalele orale, anabolizantele steroidiene |
| Colestază acută cu hepatită | Clorpromazina, eritromicina |
| Hiperbilirubinemia | Rifampicina, novobiocina, vitamina K |
| Inducţia enzimelor microzomiale | Fenitoina, fenobarbital, varfarina |
| **Leziunile cronice** | |
| Hepatită cronică | Paracetamol (utilizare cronică sau în doze mari), isoniazida, dantrolen, metildopa, fenitoina, nitrofurantoina, trazodon |
| Steatohepatita | Amiodarona, dietilstilbestrol, |
| Ciroza/fibroza hepatică | Metotrexat, nitrofurantoina, terbinafina, hipervitaminoza A |
| Sindrom colestatic | Amoxicilină/clavulanat, azatioprina, captopril, carbamazepina, carbimazol, cefalosporinele, clordiazepoxid, clorpropamida, cloxacilina, ciclosporina, danazol, disopiramida, enalapril, eritromicina, flecainida, flucloxacilina, flurazepam, flutamida, griseofulvina, gliburid, imipramina, haloperidol, ketoconazol, megestrol, mercaptopurina, metimazol, metiltestosteron, nifedipina, nitrofurantoina, noretandrolon, AINS, anticoncepţionalel orale, fenotiazinele, fenitoina, penicilamina, propoxifen, sulfamidele, tamoxifen, tiabendazol, tolbutamida, antidepresivele triciclice, verapamil |
| Colangita sclerozantă | Floxuridina, 5-fluordeoxiuridina |
| Colangita destructivă | Clorpromazina, haloperidol, proclorperazina |
| Ductopenia (sindromul de dispariţie a ducturilor biliare) | Clorpromazina, flucloxacilina, ampicilină, amoxicilină, clindamicină, tetraciclină, eritromicină, trimetoprim, tiabendazol, carbamazepină, fenitoină, barbituricele, haloperidol, imipramină, estradiol, metiltestosteron, azatioprină, ranitidină |

*Continuare tabelul 1.1.1*

| | |
|---|---|
| Afecțiuni vasculare (dilatarea capilarelor sinusoidale, maladia venoocluzivă, hipertensia portală necirotică, hiperplazia nodulară regenerativă etc. ) | Anabolizantele steroidiene, azatioprina, ciclofosfamida, dacarbazina, anticoncepționalele orale, tioguanina, vincristina, hipervitaminoza A, actinomicina D |
| Pelioza | Anabolizantele steroidiene, androgenii, azatioprina, hidroxiureea, tamoxifen, anticoncepționalele orale |
| Fosfolipidoza | Amiodarona, perhexilina, diltiazem, nifedipina |
| ***Tumorile ficatului*** | |
| Hiperplazia focală nodulară | Anticoncepționalele orale |
| Hemangiomul | Anticoncepționalele orale |
| Adenomul hepatic | Anticoncepționalele orale, estrogenii, androgenii |
| Carcinomul hepatocelular | Anticoncepționalele orale, androgenii, anabolizantele steroidiene |
| Hemoangiosarcomul | Arseniu, vinilul clorid, dioxid de toriu |
| Colangiocarcinomul | Torotrast |
| Alte carcinoame (hepatoblastomul, carcinosarcomul) | Anticoncepționalele orale |
| Epiteloid (hemoangioepiteliomul) | Anticoncepționalele orale |

## Diagnosticul afecțiunilor medicamentoase ale ficatului

**Criteriile de diagnosticare a AMF.** Criterii specifice de diagnosticare a AMF nu sunt elaborate, fiind recomandate criteriile propuse de Centrul de Evaluare și Studiu a Medicamentului (CESM), Asociația Americană de Studiu a Maladiilor Ficatului (AASMF) din 2001 (Dumbrava V.T. și coaut., 2004, 2010, Ушкалова Е.А., 2003, 2007, Бабак О.Я., 2008, Ковтун А.В. и др., 2011). Astfel, criteriile de apreciere a AMF prevăd:

1) determinarea intervalului de timp de la administrarea preparatului și dezvoltarea reacției hepatotoxice: posibilă – de la 5 la 90 zile; discutabilă – peste 90 zile;
2) excluderea cauzei alternative de AMF prin examinarea minuțioasă, inclusiv biopsia ficatului;
3) evoluția reacției după suspendarea preparatului: AMF posibilă dacă micșorarea activității enzimelor hepatice cu 50% de la inițial are loc timp de 8 zile; AMF anumită (de ce tip) –reducerea activității enzimelor hepatice cu 50% timp de 30 zile pentru afecțiunea de tip hepatocelular și de 180 zile pentru cea de tip colestatic.

În cazul suspectării AMF, mai întâi este necesar de a cerceta probele funcționale hepatice cu interpretarea lor adecvată. Cel mai frecvent se determină activitatea transaminazelor, fosfatazei alcaline, GGTP, nivelul bilirubinei etc., iar la necesitate biopsia ficatului. Astfel, creşterea activităţii transaminazelor denotă insuficienţă hepato-celulară, majorarea nivelului bilirubinei – dereglarea funcţiei excretoare a ficatului, creşterea activităţii fosfatazei alcaline - obstrucţie biliară. În acelaşi timp, majorarea activităţii transaminazelor (peste 3 ori), a fosfatazei alcaline şi nivelului bilirubinei, de rând cu datele anamnestice, permit de a presupune AMF. Se consideră optim de a monitoriza probele funcţionale ale ficatului timp de 2-4 săptămâni, iar majorarea activităţii transaminazelor de 8-10 ori necesită controlul parametrilor hemostazei (Бабак О.Я., 2008, Мухин Н.А., Моисеев С.В., 2010).

Creşterea activităţii AlAT şi AsAT la afectarea hepatocitelor poate fi de tip necrotic, dacă coeficientul de Ritis (AsAT/AlAT) este mai mare ca 1, sau de tip inflamator dacă este mai mic ca 1 (Щульпекова Ю.О., 2007). Majorarea gamaglutamiltransferazei în sânge denotă activarea de durată a sistemului de biotransformare la utilizarea medicamentelor (cu excluderea altor cauze, ca alcoolul etc.).

În funcţie de rezultatele parametrilor de laborator se disting următoarele tipuri de AMF (Dumbrava V.T. şi coaut., 2004, 2010, Tarantino G et al., 2009, David S.,Hamilton J.P., 2010, Степанов Ю.М. и др., 2005, Ключарева А.А., 2007, Бабак О.Я., 2008, Яковенко Э.П. и др., 2009, Калачнюк Т.Н., 2011, Ковтун А.В. и др., 2011):

1) hepatocelulară – AlAT >2N; FAl – N; AlAT/FAl > 5N;
2) colestatică – AlAT – N; FAl > 2N; AlAT/FAl < 2N;
3) mixtă – AlAT > 2N; FAl > 2N; AlAT/FAl = 2-5N.

Analiza literaturii de specialitate a relevat că pot provoca AMF de tip (Бабак О.Я., 2008):

1) hepatocelular – paracetamolul, izoniazida, rifampicina, pirazinamida, acidul valproic, amiodarona, acarboza, alopurinolul, baclofenul, buspirona, risperidonul, fluoxetina, paroxetina, sertralina, trazodonul, ketoconazolul, lizinoprilul, losartanul, antiinflamatoarele nesteroidiene, metotrexatul, omeprazolul, statinele, tetraciclinele, trovafloxacina, fitopreparatele din cava etc.;
2) colestatic – clorpromazina, antidepresivele triciclice, fenotiazinele antipsihotice, mirtazapina, clopidogrelul, irbesartanul, anabolizantele steroidiene, anticoncepţionalele orale, estrogenii, amoxicilina+acid clavulanic, eritromicina, terbinafina etc.;
3) mixt – amitriptilina, carbamazepina, fenitoina, fenobarbitalul, trazodonul, captoprilul, enalaprilul, verapamilul, ciproheptadina, clindamicina, sulfamidele, co-trimoxazolul, nitrofuranele, flutamidul, azatioprina etc.

Şulpecova Iu.O. (2007), în funcţie de parametrii de laborator, evidenţiază următoarele tipuri de AMF:

1) icter pur – majorarea nivelului bilirubinei neconjugate;
2) colestatic - creşterea FAl, leicinaminopeptidazei (LAP), gama-glutamiltransferazei (GGTP);

3) ictero-colestatic – creşterea bilirubinei, FAl, LAP, GGTP;
4) steatozic – majorarea GGTP, posibil a AlAT şi colinesterazei (CE);
5) hepatită – creşterea AlAT, AsAT, GGTP, coeficientul de Ritis < 1;
6) hepatită-colestatică – majorarea AlAT, AsAT, GGTP, FAl;
7) necrotic - creşterea AlAT, AsAT, GGTP, coeficientul de Ritis > 1, de regulă, bilirubina, FAl, GGTP, CT, indicele protrombinic – în normă;
8) colangitic - creşterea AlAT, AsAT, FAl, GGTP, posibil N-bilirubina şi CE;
9) hepatită cronică,
10) ciroză hepatică;
11) fibroză;
12) afectarea vaselor,
13) tumori ale ficatului;
14) combinate.

În funcţie de mecanismul principal al necrozei hepatocitelor se evidenţiază următoarele variante patogenetice ale sindromului citolitic, ce ar determina tactica terapeutică (Ковтун А.В. и др., 2011):

1) necroza hepatocitelor fără colestază şi dereglări autoimune cauzate de activarea POL (creşterea AlAT, AsAT cu activitate normală a FAl, GGTP, gama-globulinelor);
2) necroza hepatocitelor cu colestază intralobulară (majorarea AlAT, AsAT, GGTP, posibil a FAl, dar nu mai mult de 2 ori);
3) necroza hepatocitelor cu colestaza extralobulară (ductulară) (creşterea AlAR, AsAT, GGTP, FAl peste 2 ori);
4) necroza hepatocitelor de geneză autoimună (majorarea AlAT, AsAT, gama-globulinelor peste 1,5 ori, complexelor imune circulante, imunoglobulinelor).

Sindromul colestatic se poate caracteriza prin (Ковтун А.В. и др., 2011):

1) colestază intralobulară – tip hepatocelular (creşterea izolată a GGTP) sau canalicular (majorarea GGTP asociată cu creşterea FAl nu mai mult de 2 ori);
2) colestază extralobulară (ducturală) – intensificarea activităţii GGTP şi FAl peste 2 ori.

Pentru sindromul inflamaţiei imune este caracteristică creşterea activităţii AlAT, AsAT, a nivelului gama-globulinelor (peste 1,5 ori), complexelor imune circulante, imunoglobulinelor. În sindromul inflamaţiei hepatocelulare se constată micşorarea indicelui protrombinic sau majorarea timpului protrombinic, precum şi, nu rar, a nivelului albuminelor (Ковтун А.В. и др., 2011).

Diagnosticul de AMF presupune excluderea oricărei cauze (alcoolul, virusurile, maladii autoimune, colestatice şi metabolice, dereglări hemodinamice etc.). În unele situaţii, la suspectarea unui preparat concret (paracetamol etc.) se va determina concentraţia acestuia în ser. La presupunerea unei reacţii de sensibilitate se va efectua testul de transformare a limfocitelor, care are o specificitate de 80-90% (Бабак О.Я., 2008).

Biopsia ficatului nu este obligatorie în diagnosticul AMF, îndeosebi când este argumentată hepatotoxicitatea unui medicament cunoscut, dar ea va fi raţională în dubii în privinţa diagnosticului sau se suspectă hepatotoxicitatea unui preparat ce nu a fost constatată până acum (Ключарева А.А., 2007, Бабак О.Я., 2008). În studiile clinice, pentru confirmarea hepatotoxicităţii medicamentului şi, îndeosebi, pentru a demonstra eficacitatea hepatoprotectoarelor prin medicina bazată pe dovezi studiile morfologice se consideră ca un criteriu obligator.

Pentru aprecierea gravităţii evoluţiei AMF şi a eficacităţii farmacoterapiei s-au folosit (Калачнюк Т.Н., 2011):

1) Indicele clinic (IC) = 3,3xvârsta (ani) + 1,6 x durata utilizării preparatului (luni) + 18,6 x disconfortul în hipocondriul drept + 6,3 x dilatarea v.portae după USG + 12 x modificările în pancreas după USG. Parametrii calitativi: disconfortul în hipocondriul drept, dilatarea v.portae şi modificările în pancreas se apreciau prin: 0 – absent; 1- prezent.
2) Indicele de laborator (IL) = 0,6 x proteinele totale (g/l) + 0,02 x FAl (U/l) + 0,06 x GGTP (U/l) + 0,4 x AlAT (U/l) + 0,51 x AsAT (U/l) + 0,28 x bilirubina directă (mkmol/l) – 0,5 x Hb (g/l) – 0,06 x nr.trombocitelor
3) Indicele gravităţii (IG) = 1,29 x IC + 0,32 x IL
4) Indicele activităţii histologice (IAH) după Knodele cu aprecierea:
   - necroza hepatocitelor preportale (de la 0 la 10);
   - necroze focale intralobulare şi distrofia hepatocitelor (de la 0 la 4);
   - infiltratul inflamator în tractul portal (de la 0 la 4);
   - gradul fibrozei (0- absent, 1- minim, 2 – moderat, 3 – marcat, 4 - ciroză).

Prin indicele Knodele se apreciază activitatea după cum urmează: 1-3p-minimă; 4-8p – slabă; 9-12 – moderată, 13-18 – marcată.

Studiile clinice au demonstrat că nu sunt semne clinice specifice pentru hepatitele medicamentoase, IC este mai mare la pacienţii cu fibroză. Analiza datelor a stabilit că între IC şi IAH există o corelaţie directă, dar slabă şi neveridică. Astfel, IC nu permite a aprecia gradul proceselor patologice în ficat în AMF (Калачнюк Т.Н., 2011).

Indicele de laborator reflectă multitudinea funcţiilor ficatului şi marcherii sindromului de citoliză şi colestază şi permite mai adecvat a aprecia gravitatea afecţiunii hepatice. Analiza a demonstrat o corelaţie directă şi semnificativă între IL şi IAH la pacienţii cu hepatită medicamentoasă (Калачнюк Т.Н., 2011).

Indicele gravităţii permite a aprecia gradul de manifestare a hepatitei medicamentoase, luând în considerare datele clinice şi de laborator. Analiza a stabilit o corelaţie directă şi veridică între IG şi IAH. Astfel, IL permite de a căpăta o informaţie despre modificările morfologice în ficat în hepatitele medicamentoase fără a recurge la metodele invazive (Калачнюк Т.Н., 2011).

În baza biopsiei şi autopsiilor s-au evidenţiat următorii marcheri structurali ai AMF (Ивашкин В.Т. и др., 2009):

1) hepatocite – steatoză macroveziculară, colestază intrahepatocelulară şi/sau canaliculară, necrobioza şi necroza centrolobulară cu urmăorii marcheri ultrastructurali:
   - hiperplazia reticulului endoplasmatic neted asociată cu reducerea organitelor responsabile de sinteza proteinei;
   - destrucţia şi hiperplazia compensatoare a mitocondriilor, formarea megamitocondriilor;
   - „automobilizarea" hepatocitelor cu creşterea suprafeţei citolemei ce asigură schimbul parenchimatos-sinusoidal în condiţiile fibrozei perisinusoidale;
2) infiltrarea celulară – prezenţa eozinofilelor în infiltratele celulare ale tracturilor portale şi în sinusoide;
3) granuloame medicamentoase – postnecrotice cu celule polinucleare, siderofagale;
4) fibroza – venelor centrale (metabolică), pericentrale; perisinusoidală; ciroza hepatică;
5) sinusoidele – pelioză (dilatarea marcată a sinusoidelor); acumularea bilei şi/sau pigmenţilor ce conţin Fe în celulele Kupffer;
6) ducturile biliare – colangită (destrucţia epiteliului ducturilor cu infiltrare limfoidă şi eozinofilică perifocală).

## Metodele de apreciere a rezervelor funcţionale ale ficatului

Parametrii biochimici de rutină permit de a determina gradul de afectare a ficatului, dar nu şi de a judeca despre rezervele funcţionale. Pentru aceasta este binevenită determinarea clearancelui substanţelor ce se metabolizează în ficat:

***Clearancele cafeinei.*** Cafeina se elimină preponderent prin N-demetilare cu participarea izoenzimei CYP 1A2 a citocromului P-450. Mai specific pentru această izoenzimă este testul respirator, iar în urină, salivă şi plasmă este mai puţin specific deoarece metaboliţii metilxantinici se pot forma şi prin izoenzimele CYP 3A4, 2D6. Rezultatele testului cu cafeină, deşi este o metodă sigură de apreciere a funcţiei ficatului, pot fi influenţate de fumat (inducţia CYP 1A2), sexul şi vârsta pacienţilor şi utilizarea altor medicamente.

***Proba cu galactoză.*** Galactoza se metabolizează prin galactochinaza hepatică, enzimă care are mai puţine variaţii individuale decât citocromul P-450, din care considerente creşte semnificaţia diagnostică a testului. Se recurge la proba respiratoare şi intravenoasă cu galactoza marcată cu determinarea multiplă a concentraţiei galactozei timp de 2 ore. În acest caz eliminarea galactozei corelează intens cu masa hepatocitelor funcţionale, care este micşorată în necroza acută şi cronică, dar puţin modificată în afecţiunile colestatice.

***Proba cu lidocaină.*** Lidocaina, cu participarea citocromului P-450 3A4, se supune N-demetilării cu formarea monoetilglicinexilidinei. După administrarea intravenoasă a preparatului se determină concentraţia metabolitului în ser. Clearancele lidocainei poate fi influenţat de sexul pacientului (mai mare la bărbaţi), vârstă (mai mare la femei) şi de administrarea medicamentelor care cresc activitatea CYP 3A4. Micşorarea clearancelui lidocainei se constată în ciroza hepatică şi corelează cu pronosticul. Proba cu lidocaină este mai puţin specifică ca cea cu galactoză pentru aprecierea afectării citotoxice a ficatului.

***Proba cu antipirină.*** Antipirina se metabolizează totalmente în ficat prin N-demetilare cu participarea citocromului P-450. Clearancele preparatului are o importanţă mai mare pentru aprecierea insuficienţei hepatice cronice şi corelează strâns cu timpul protrombinic, hipoalbuminemia şi gravitatea lezării hepatocitelor, dar mai puţin este informativă în afecţiunea acută a ficatului. Proba cu antipirină poate fi influenţată de particularităţile individuale şi medicamentele ce modifică activitatea citocromului P-450, deficitul GSH, folaţilor, vitaminei $B_{12}$, infecţii, maladiile glandei tiroide.

**Tatamentul afecţiunilor medicamentoase ale ficatului**

Actualmente, reieşind din medicina bazată pe dovezi, nu există un tratament specific. Excepţie poate face utilizarea unor antagonişti (antidoturi) în afecţiunea medicamentoasă a ficatului indusă de paracetamol (N-acetilcisteina), preparatele fierului (deferoxamina), oxidanţi (antioxidanţii, silimarina) etc. (Dumbrava V.T. şi coaut., 2004, 2010, Шульпекова Ю.О., 2006, 2007, Ковтун А.В. и др., 2011).

În cazul apariţiei primelor simptome clinice ale AMF mai întâi se suspendează, dacă e posibil, preparatul. În multe cazuri, manifestările clinice sunt absente, iar la examinarea parametrilor de laborator se constată o creştere minimă, moderată sau tranzitorie a transaminazelor şi nu există o schemă alternativă de tratament (de exemplu, în tuberculoză, HIV, tumori etc.). În aceste cazuri, farmacoterapia se poate continua cu un control riguros al enzimelor hepatice şi simptomelor clinice (Dumbrava V.T. şi coaut., 2004, 2010, Шульпекова Ю.О., 2006, 2007, Бабак О.Я., 2008, Мухин Н.А., Моисеев С.В., 2010, Ковтун А.В. и др., 2011). În aceste situaţii medicul trebuie să ia decizii asupra tratamentului medicamentos care să asigure: protecţia hepatocitelor de lezare; restabilirea structurilor membranare; prevenirea sau regresia steatozei; retenţia progresiei fibrozei; preîntâmpinarea progresiei dereglărilor morfologice; efectuarea terapiei de bază (absenţa interacţiunilor medicamentoase). Un şir de autori pentru tratamentul AMF recomandă hepatoprotectoarele: fosfolipidele esenţiale, silimarina şi analogii ei, ademetionina, acidul ursodezoxicolic, arginina, betaina, antioxidanţii etc. (Dumbrava V.T. şi coaut., 2004, 2010, Степанов Ю.М. и др., 2005, Шульпекова Ю.О., 2006, 2007, Ключарева А.А., 2007, Бабак О.Я., 2008, Буеверов А.О., 2010, Яковенко Э.П., 2008, Яковенко Э.П. и др., 2009, Мухин Н.А., Моисеев С.В., 2010, Ковтун А.В. и др., 2011). Hepatoprotectoarele se utilizează dacă în ficat au loc următoarele procese patologice: necroza hepatocitelor, infiltraţia lipidică, colestaza intra- şi extralobulară, fibroza (Ковтун А.В. и др., 2011).

***Fosfolipidele esenţiale*** sunt patogenetic argumentate în cazul AMF cu lezarea membranelor celulare prin: includerea în membranele hepatocitelor, restabilirea funcţiilor membranelor; diminuarea POL (vezi cap.1). Eficacitatea şi inofensivitatea a fost demonstrată în studii experimentale (peste 30 modele de hepatite toxice) şi clinice (peste 180 trialuri) în care s-au ameliorat simptomele clinice, parametrii de laborator şi dereglările morfologice, confirmate prin biopsia ficatului (Dumbrava V.T. şi coaut., 2004, 2010, Шульпекова Ю.О., 2006, 2007, Ключарева А.А., 2007, Бабак О.Я., 2008, Срыпник И.Н., 2008, Полунина Т.Е., Маев И.В., 2008).

Fosfolipidele esenţiale se consideră binevenite în AMF ce evoluează după tipul steatohepatitei (Шульпекова Ю.О., 2006, Ковтун А.В. и др., 2011). Preparatele sunt recomandate pe un timp lung (până la 6 luni) în tratamentul fibrozei induse de medicamente (Ковтун А.В. и др., 2011).

***Ademetionina***, datorită efectului antioxidant, detoxicant, regenerator şi antifibrotic asigură protecţia ficatului în hepatopatiile induse de medicamente (Шульпекова Ю.О., 2006, 2007, Ключарева А.А., 2007, Бабак О.Я., 2008, Срыпник И.Н., 2008, Полунина Т.Е., Маев И.В., 2008). Preparatul se consideră de elecţie în cazul creşterii marcate a GGTP (peste 3 ori), precum şi în colestaza intralobulară (parenchimatoasă-canaliculară). În ultima se poate asocia cu acidul ursodezoxicolic (Ковтун А.В. и др., 2011).

Ademetionina poate influenţa asupra sindromului de colestază, inclusiv provocat de medicamente, prin: normalizarea permeabilităţii membranei bazolaterale şi/sau canaliculare a hepatocitelor; creşterea activităţii $Na^+K^+$-ATP-azei; majorarea potenţialului energetic al celulei; ameliorarea captării componentelor bilei din sânge, transportului intracelular şi eliminării în canaliculele biliare; intensificarea sintezei tiolilor (GSH, taurinei, sulfaţilor) ce protejează de efectele citotoxice ale radicalilor liberi, acizilor biliari; micşorarea producerii TNF-alfa şi creşterea sintezei IL-10. Utilizarea preparatului este argumentată în colestaza hepatocelulară şi/sau canaliculară deoarece este micşorată cantitatea de S-adenozil-metionină din cauza diminuării activităţii S-adenozil-metioninsintetazei (Яковенко Э.П. и др., 2009).

Ademetionina se consideră de elecţie la pacienţii cu AMF de tip hepatocelular şi/sau mixt (800 mg/zi intravenos 5 zile, apoi 800 mg/zi intern). Preparatul s-a indicat, de asemenea, la pacienţii cu hepatite medicamentoase la care s-a depistat sindromul de colestază, provocat de izoniazidă, unele antiinflamatoare nesteroidiene, simvastatină (Калачнюк Т.Н., 2011).

***Acidul ursodezoxicolic*** asigură hepatoprotecţia prin efectul citoprotector, coleretic, colelitolitic, imunomodulator şi antiinflamator (Бабак О.Я., 2008). Preparatul se consideră de elecţie în AMF cu colestază marcată (Шульпекова Ю.О., 2006, 2007, Ключарева А.А., 2007, Срыпник И.Н., 2008), inclusiv în colestaza intralobulară (singur sau în asociere cu ademetionina) şi extralobulară (în doze de 15-30 mg/kg/zi până la înlăturarea colestazei) (Ковтун А.В. и др., 2011).

Eficacitatea acidului ursodezoxicolic în sindromul de colestază poate fi determinată de: micşorarea nivelului acizilor biliari hidrofobi ce participă în circulaţia enterohepatică cu reducerea acţiunii toxice asupra hepatocitelor şi epiteliului ducturilor biliare; acţiunea antiinflamatoare şi imunomodulatoare (Dumbrava V.T. şi coaut., 2004, 2010, Яковенко Э.П. и др., 2009).

Acidul ursodezoxicolic (în doze de 15 mg/kg/zi timp de 20 zile) s-a indicat la pacienţii cu sindrom colestatic şi/sau mixt în hepatitele medicamentoase induse prin anticoncepţionalele orale şi unele antiinflamatoare nesteroidiene (Калачнок Т.Н., 2011).

***Arginina*** participă la sinteza proteinelor, inhibă formarea radicalilor liberi şi activarea POL, reduce activitatea NOSi, COX-2, modifică activitatea citocromului P-450, micşorează nivelul TNF-alfa, NF-KB ce contribuie la diminuarea steatozei, necrozei, inflamaţiei şi fibrozei. Concomitent aminoacidul reduce nivelul amoniacului şi ameliorează funcţia detoxicantă a ficatului (Dumbrava V.T. şi coaut., 2004, 2010, Бабак О.Я., 2008).

***Betaina,*** ca un metabolit al colinei, participă la sinteza fosfolipidelor (fosfatidilcolinei), preîntâmpină steatoza prin mobilizarea lipidelor din ficat, normalizează metabolismul lipidic (Бабак О.Я., 2008).

***Antioxidanţii*** (beta-carotinele, polifenolii, tocoferolii, acidul ascorbic, flavonoizii (evercerutina etc.), seleniul etc.) patogenetic sunt argumentaţi prin faptul că în majoritatea AMF se dezvoltă stresul oxidativ, însă eficacitatea lor nu este pe deplin confirmată prin medicina bazată pe dovezi (Шульпекова Ю.О., 2006, 2007, Срыпник И.Н., 2008).

În caz de activitate marcată a hepatitei, precum şi în reacţiile determinate imun (procese autoimune) se recomandă cu precauţie glucocorticoizii (Ковтун А.В. и др., 2011).

În AMF cu encefalopatie hepatică se recomandă, de rând cu alte hepatoprotectoare, ornitinul aspartat datorită efectului hipoamonemiant, detoxicant, anabolic şi anticatabolic (Полунина Т.Е., Маев И.В., 2008).

În efectuarea unui tratament raţional al AMF e necesar de a cunoaşte particularităţile farmacodinamice şi farmacocinetice ale hepatoprotectoarelor, rezultatele studiilor experimentale şi clinice, precum şi aspectele patogenetice ale leziunii hepatice induse de medicamentul respectiv. Aceasta va permite o selectare adecvată şi diferenţiată a hepatoprotectoarelor şi asigurarea eficacităţii şi inofensivităţii (Шульпекова Ю.О., 2006, 2007, Ключарева А.А., 2007, Срыпник И.Н., 2008, Яковенко Э.П., 2008, Ковтун А.В. и др., 2011).

Principalii factori, ce vor determina selectarea hepatoprotectoarelor, se reduc la: etiologia AMF; prezenţa colestazei (după GGTP şi FAl); gradul de activitate a procesului; necesitatea efectuării terapiei antifibrotice de durată; implicarea în patogeneza necrozei hepatocitelor a proceselor imune (Яковенко Э.П., 2008).

Pentru selectarea adecvată a hepatoprotectoarelor se recomandă a respecta următorul algoritm:

1) stabilirea etiologiei AFM;
2) concretizarea dacă este sau nu colestaza (în caz de prezenţă a colestazei: a) majorarea numai a GGTP - se recomandă ademetionina sau acidul ursodezoxicolic şi/sau asocierea lor în funcţie de gradul de activitate a procesului; b) creşterea activităţii GGTP şi FAL – acidul ursodezoxicolic);

3) determinarea activităţii procesului (după AsAT, AlAT): a) sindrom moderat de citoliză (AlAT, AsAT majorate până la 5 ori) – cura parenterală cu fosfolipide esenţiale sau ademetionină sau preparatele acidului lipoic, iar după finisarea lor pentru tratamentul de durată acidul ursodezoxicolic (10 mg/kg/zi); b) sindrom marcat de citoliză (boala alcoolică a ficatului) – prednisolon iniţial 30-40 mg, apoi 5 mg, iar din a 2 săptămână acidul ursodezoxicolic (10 mg/kg/zi) timp de 3 luni cu un supliment de vitaminele $B_{12}$, $B_1$, $B_6$, PP; c) asocierea sindromului de citoliză cu colestaza – ademetionina intravenos timp de 10-15 zile în asociere cu acidul ursodezoxicolic (15 mg/kg/zi), apoi acesta până la dispariţia citolizei şi colestazei;
4) obţinerea efectului antifibrotic prin utilizarea silimarinei, fosfolipidelor esenţiale sau acidului ursodezoxicolic până la 6 luni;
5) tratamentul maladiilor căilor biliare, ameliorarea proceselor de digestie (acidul ursodezoxicolic, preparatele din anghinară);
6) asigurarea duratei optime a tratamentului (Яковенко Э.П., 2008, Яковенко Э.П. и др., 2009).

**Profilaxia afecţiunilor medicamentoase ale ficatului**

Profilaxia AMF prevede utilizarea raţională a preparatelor, monitorizarea reacţiilor adverse posibile, limitarea influenţelor hepatotoxice suplimentare, iar unii autori recomandă folosirea hepatoprotectoarelor, inclusiv de origine vegetală (silimarinei etc.) cu efect antioxidant, pe fundalul terapiei medicamentoase de durată (Ключарева А.А., 2007, Сръпник И.Н., 2008, Мухин Н.А., Моисеев С.В., 2010).

În profilaxia AMF se pot evidenţia două aspecte ale problemei (Мухин Н.А., Моисеев С.В., 2010):

1) identificarea hepatotoxicităţii în studiile ce preced înregistrarea medicamentelor noi, precum şi pe parcursul utilizării în practica medicală;
2) controlul după reacţiile adverse din partea ficatului la bolnavii concreţi.

Studiile din ultimele decenii au demonstrat că cercetările experimentale şi clinice nu exclud apariţia pe piaţă a preparatelor hepatotoxice (troglitazon, trovafloxacina, bromfenac etc.). E necesar de a menţiona că nu însăşi hepatotoxicitatea este cauza retragerii medicamentelor, ci gradul acesteia, precum şi raportul risc/beneficiu şi/sau prezenţa preparatelor de alternativă cu toxicitate mai mică.

În studiile preclinice e necesar de a determina influenţa substanţelor cercetate asupra activităţii transaminazelor, FAl, GGTP, nivelului bilirubinei, iar ca criteriu de hepatotoxicitate marcată serveşte creşterea frecventă sau peste 8 N a activităţii AlAT, AsAT, care se poate asocia cu hiperbilirubinemia. În studiile clinice e puţin probabil că se vor depista cazuri de hepatotoxicitate, îndeosebi idiosincrazică, deoarece numărul pacienţilor este limitat (de exemplu, în studiile clinice de faza III e necesar de circa 3000 pacienţi), iar la o frecvenţă de 1:10000 vor fi necesare studii pe 30000 bolnavi, fapt ce e posibil doar după utilizarea medicamentului în practica medicală. În acest context, un rol hotărâtor le revine studiilor postmarketing după controlul reacțiilor adverse, efectuate de companiile farmaceutice, sau în cele multicentrice randomizate cu renovarea instrucțiunii pentru preparat. Lucrul în acest domeniu lasă de dorit deoarece, chiar și în țările Uniunii Europene, SUA, Japonia etc., frecvența reacțiilor înregistrate este la nivel jos (circa 6%).

O măsură importantă în profilaxia reacțiilor hepatotoxice poate constitui controlul sistematic al activității transaminazelor (fiecare 6 luni), dar realizarea ei este foarte dificilă din considerente economice sau că unele reacții survin brusc (Мухин Н.А., Моисеев С.В., 2010).

În cazul utilizării medicamentelor cu hepatotoxicitate demonstrată (preparatele antituberculoase, antivirale, antitumorale, antiepileptice etc.) și care nu pot fi suspendate se poate recomanda administrarea concomitentă a hepatoprotectoarelor (Мухин Н.А., Моисеев С.В., 2010).

În baza analizei datelor din literatură se pot evidenția măsuri ce țin de:

**profilaxia primară:**

- aprecierea regimului alimentar, inclusiv utilizarea plantelor medicinale;
- examinarea minuțioasă a pacineților, inclusiv anamnestică în vederea tratamenrului medicamentos precedent;
- evitarea administrării medicamentelor cu potențial hepatotoxic, în special la bolnavii cu risc sau cu hepatopatii cronice preexistente;
- prescrierea argumentată a medicamentelor (dozelor și regimului de dozare) în baza proprietăților farmacodinamice, farmacocinetice și farmacogenetice;
- studierea interacțiunilor medicamentoase și evitarea polipragmaziei;
- monitorizarea strictă a reacțiilor adverse ale medicamentelor, îndeosebi recent apărute pe piața farmaceutică, atât pe parcursul tratamentului, cât și posttratament (unele preparate pot manifesta efecte adverse și peste un timp nelimitat după administrare);
- informarea pacientului despre reacțiile adverse, inclusiv hepatotoxicitatea posibilă a medicamentelor prescrise;
- implicarea bolnavilor în procesele de tratament, inclusiv de monitorizare a reacțiilor adverse;

**profilaxia secundară:**

- monitorizarea periodică a funcțiilor ficatului după tratamentul cu preparate cu potențial hepatotoxic în funcție de particularitățile efectului hepatotoxic, proprietățile farmacocinetice și starea pacientului;
- recomandarea hepatoprotectoarelor în timpul și/sau după tratamentul cu preparate cu potențial hepatotoxic, ce nu pot fi evitate (antituberculoase, antitumorale, antiretrovirale, antiepileptice etc.);
- supravegherea pacienților ce au făcut hepatopatie medicamentoasă cu controlul periodic;
- informarea în centrele de farmacovigelență despre reacțiile adverse, inclusiv hepatotoxice, pentru ameliorarea farmacoterapiei.

## 1.2 Afecţiunile toxice ale ficatului

### 1.2.1 Hepatotoxicitatea paracetamolului

Paracetamolul sau acetaminofenul se consideră unul din cele mai frecvent utilizat analgezic antipiretic. Preparatul original ca analgezic a fost obţinut în 1893 de către von Mering când acesta a pregătit unui bolnav cu sindrom algic cronic un preparat care coţinea accidental un derivat acetanilidic ce a contribuit la jugularea durerilor. Studiile ulterioare ale derivatului acetanilidic au demonstrat prezenţa efectului analgezic, dar care în doze terapeutice manifesta efecte toxice asupra ficatului. Cercetările substanţei respective au dus la sinteza în Marea Britanie (1949) a paracetamolului (para-acetil-aminofenol), iar în SUA – a acetaminofenului. Utilizarea în practica medicală a paracetamolului datează cu anul 1960. Acetaminofenul reprezintă un compus cu masa moleculară de 151,17 care practic este insolubil în apă, dar se dizolvă bine în alcool, acetonă şi baze.

Paracetamolul este un component al multor preparate combinate şi foarte frecvent utilizate. Astfel, se estimează că în SUA circa 50 mln adulţi folosesc acetaminofenul.

Actualmente utilizarea preparatului reprezintă o problemă de sănătate din cauza reacţiilor adverse, determinate de eliberarea lui fără prescripţie medicală, care poate cauza intoxicaţii severe prin suicid sau întâmplătoare, iar în unele situaţii şi la utilizarea în doze terapeutice. Astfel, se consideră că acetaminofenului îi revin circa 50% din cazurile de insuficienţă hepatică acută în SUA şi Marea Britanie, iar cheltuielile pentru tratamentul supradozărilor paracetamolului în SUA constituie 87 mln dolari anual (Hinson J.A. et al., 2010, Шифман К.М., Ершов А.А., 2007). Concomitent, se estimează că paracetamolul ar fi responsabil de 60-85% cazuri de intoxicaţie acută cu scop suicidal şi 15-40% întâmplătoare, care în 40-70% vor duce la insuficienţă hepatică acută (Шифман К.М., Ершов А.А., 2007, Бабак О.Я., 2007, 2008).

Hepatotoxicitatea paracetamolului poate fi determinată de mai multe mecanisme: formarea metaboliţilor toxici; alterarea fluxului sangvin hepatic; inducerea stresului oxidativ; disfuncţia mitocondriilor; eliberarea citochinelor şi chemochinelor inflamatoare; includerea unor mecanisme intracelulare etc. (schema 1.2.1.1) (Chen C.et al., 2009, Hinson J.A. et al., 2010, Шифман К.М., Ершов А.А., 2007).

### Metabolismul paracetamolului

Metabolismul paracetamolului în condiţii fiziologice are loc preponderent în ficat prin reacţiile fazei II de detoxicare. Cea mai mare parte a preparatului se supune conjugării cu acidul glucuronic cu participarea UDP-glucuroniltransferazei şi constituie circa 60% din metaboliţii eliminaţi prin urină. O altă parte a paracetamolului prin intermediul fenolsulfotransferazei se cuplează cu sulfatul care ulterior (circa 35%) se elimină prin rinichi. În proporţie de aproximativ 3% se supune oxidării sub influenţa CYP2E1, 1A2, 3A4, 2D6 cu formarea N-acetil-pbenzochinoniminei (NAPQI), care ulterior prin intermediul GST sau spontan se conjugă cu GSH. Conjugații formați cedează glicina și acidul glutamic cu formarea de cisteină, conjugatul, ce se excretă ulterior sub acțiunea N-acetiltransferazei, este convertit în acid mercaptopuric. Mai puțin de 5% din paracetamol se elimină sub formă neschimbată prin urină. Glucurono- și sulfoconjugații nu sunt activi și nu sunt implicați în afectarea a careva organe (schema 1.2.1.1) (Forte J. S., 2002, Hinson J.A. et al., 2010, Шифман К.М., Ершов А.А., 2007).

Metabolismul paracetamolului poate suferi modificări semnificative la utilizarea dozelor toxice (peste 10 g/zi), precum și la folosirea celor terapeutice (până la 4 g/zi) timp îndelungat sau la asocierea factorilor de risc. În acest caz, o parte din preparat se va supune și biotransformărilor în reacțiile fazei I (schema. 1.2.1.2.). Astfel, cu participarea oxidazelor cu funcții mixte, preponderent a izoenzimelor citocromului P-450 (CYP 2E1, CYP 3A4, CYP 1A2, CYP 2D6 etc.), în ficat (și parțial în rinichi) are loc oxidarea paracetamolului prin transportul a 2 electroni cu formarea metabolitului reactiv – N-acetil-p-benzochinonimină (NAPQI), care datorită proprietăților electrofile se cuplează cu proteinele celulare. Metabolitul toxic se supune preponderent conjugării cu GSH în ficat cu participarea glutation S-transferazei (GST), iar metabolitul conjugat în rinichi prin scindarea acidului glutamic (gama-glutamiltranspeptidaza - GGTP) și glicinei (aminopeptidaza M) rezultă un cistein conjugat care sub acțiunea N-acetiltransferazei (NAT) este convertit în acid mercaptopuric eliminat prin urină. (Forte J.S., 2002, Hinson J.A. et al., 2010, Шифман К.М., Ершов А.А., 2007).

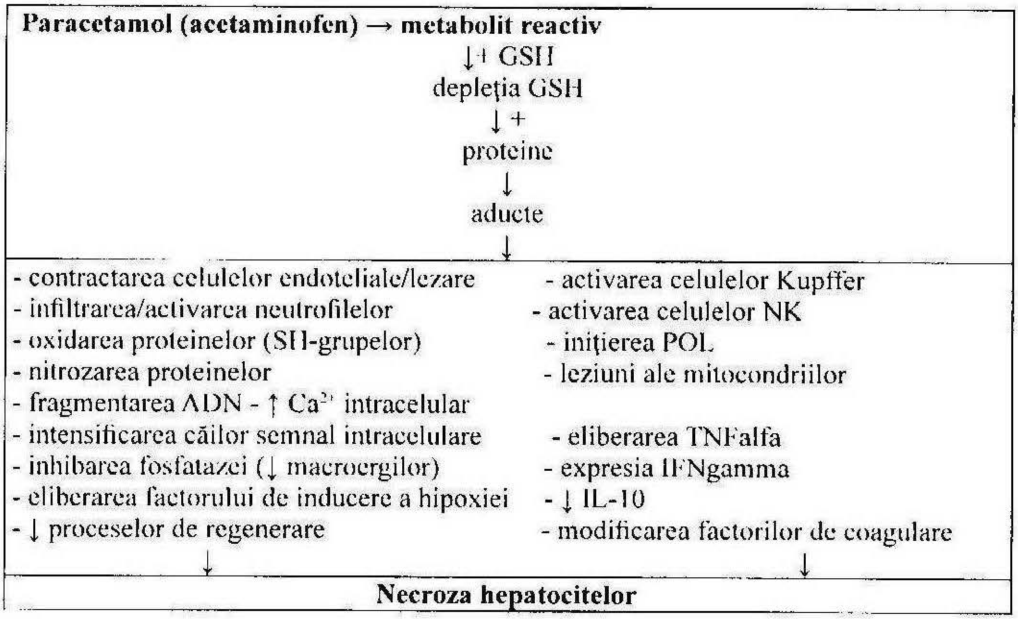

Paracetamol (acetaminofen) → metabolit reactiv
↓+ GSH
depleția GSH
↓ +
proteine
↓
aducte
↓
- contractarea celulelor endoteliale/lezare
- infiltrarea/activarea neutrofilelor
- oxidarea proteinelor (SH-grupelor)
- nitrozarea proteinelor
- fragmentarea ADN - ↑ Ca²⁺ intracelular
- intensificarea căilor semnal intracelulare
- inhibarea fosfatazei (↓ macroergilor)
- eliberarea factorului de inducere a hipoxiei
- ↓ proceselor de regenerare
- activarea celulelor Kupffer
- activarea celulelor NK
- inițierea POL
- leziuni ale mitocondriilor
- eliberarea TNFalfa
- expresia IFNgamma
- ↓ IL-10
- modificarea factorilor de coagulare
↓
↓
Necroza hepatocitelor

**Fig. 1.2.1.1 Mecanismele patogenetice de dezvoltare a hepatotoxicității paracetamolului.**

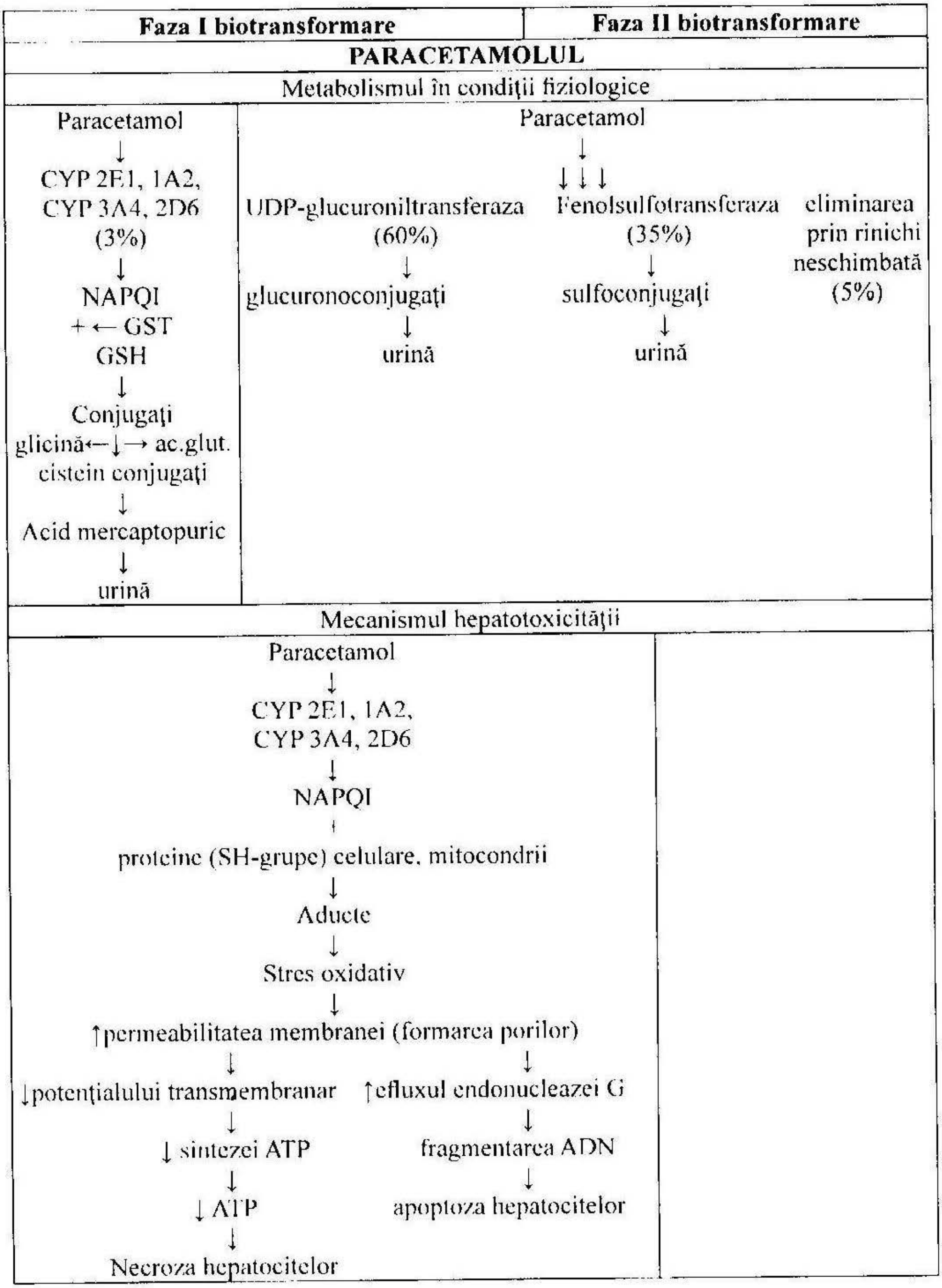

Faza I biotransformare
Faza II biotransformare
PARACETAMOLUL
Metabolismul în condiții fiziologice
Paracetamol
CYP 2E1, 1A2,
CYP 3A4, 2D6
(3%)
NAPQI
+ ← GST
GSH
Conjugați
glicină←↓→ ac.glut.
cistein conjugați
Acid mercaptopuric
urină
Paracetamol
UDP-glucuroniltransferaza
(60%)
glucuronoconjugați
urină
Fenolsulfotransferaza
(35%)
sulfoconjugați
urină
eliminarea
prin rinichi
neschimbată
(5%)
Mecanismul hepatotoxicității
Paracetamol
CYP 2E1, 1A2,
CYP 3A4, 2D6
NAPQI
proteine (SH-grupe) celulare, mitocondrii
Aducte
Stres oxidativ
↑permeabilitatea membranei (formarea porilor)
↓potențialului transmembranar
↓ sintezei ATP
↓ ATP
Necroza hepatocitelor
↑efluxul endonucleazei G
fragmentarea ADN
apoptoza hepatocitelor

**Fig. 1.2.1.2 Metabolismul și toxicitatea paracetamolului.**

**Rolul metaboliților toxici.** N-acetil-p-benzochinonimina (NAPQI) destul de rapid se supune conjugării cu GSH cu formarea unor complexe stabile netoxice (S-glutation-S-acetamonifen) cu reducerea ulterioară la acetaminofen. Acest proces este valabil dacă conținutul GSH în ficat este normal, iar în caz de depleție a nivelului GSH metabolitul toxic interacționează covalent cu grupele tiolice (sulfhidrice - SH) ale proteinelor celulare, îndeosebi ale mitocondriilor, cu formarea aductelor (NAPQI + proteine), complexe stabile, nivelul cărora corelează cu toxicitatea relativă a paracetamolului. Ulterior s-a constatat că legăturile covalente se realizează între NAPQI cu cisteina, iar complexele respective se pot determina în sânge. Astfel, s-a introdus în clinică metoda de determinare a complexului NAPQI + proteină (metoda ELISA) care permite nu numai de a confirma geneza insuficienței hepatice acute induse de paracetamol, dar, posibil, și reprezintă un factor patogenetic ce reflectă afectarea hepatocitelor (Forte J.S., 2002, Yang R. et al., 2009, Posadas I et al., 2009, Hinson J.A. et al., 2010, Шифман К.М., Ершов А.А., 2007).

Studiile experimentale au relevat că aductele NAPQI + proteină în ficat se depistează deja peste 1-2 ore după liza hepatocitelor și apariția lor în sânge, care corela cu majorarea activității AlAT și AsAT în ser. Aceste date indică originea hepatică a complexelor și reprezintă biomarkeri ai hepatotoxicității paracetamolului. Cercetările imunohistochimice au relevat corelația strânsă între prezența complexelor NAPQI + proteină și hepatotoxicitatea paracetamolului în timp. Astfel, complexele se evidențiază în ficat deja peste 15 minute de la intoxicație, iar peste 1 oră colorația (roșie) are intensitate maximă și sunt limitate în hepatocitele centrolobulare. Aductele nu se găsesc în zonele periportale. La 2-6 ore în hepatocitele ce conțin aducte se depistau modificări necrotice evidențiate prin vacuolizarea și picnoza nucleelor și doar în unele hepatocite se observa că se dezvoltă necroza. Peste 24 ore toate celulele necrotice conțineau complexele respective (fig 1.2.1.2).

Aceste date sugerează ipoteza că toxicitatea paracetamolului este mediată de cuplarea covalentă a preparatului cu proteinele critice. Actualmente s-au identificat circa 20 proteine capabile să formeze complexe cu NAPQI printre care: glutaminsintetaza, glutamindehidrogenaza, aldehiddehidrogenaza, glutationperoxidaza, glutamatdehidrogenaza, carboanhidraza III, glicin-N-metiltransferaza, proteinle ce cuplează seleniul (acetaminofen), N-10-formiltetrahidrofolat-dehidrogenaza etc. Astfel, s-a stabilit că dozele toxice de analgezic la șoricei micșorează activitatea catalitică a unor enzime cu circa 25% și deși nu este totală ea poate fi suficientă pentru dezvoltarea modificărilor ireversibile și moartea celulelor. În același timp, cuplarea metabolitului toxic cu unele proteine, îndeosebi cele mitocondriale, este urmată de reducerea proceselor energetice în hepatocite cu dereglarea gradientului ionic transmembranar, precum și a activității ATP-azei plasmatice (Hinson J.A. et al., 2010, Шифман К.М., Ершов А.А., 2007).

Hepatotoxicitatea acetaminofenului este determinată de formarea metabolitului toxic NAPQI care duce la depleția GSH și cuplarea covalentă cu proteinele. S-a stabilit însă că formarea aductelor nu este suficientă pentru moartea hepatocitelor, dar este un semnal al toxicităţii care se amplifică în celulă prin disfuncţia mitocondriilor şi formarea SRO şi peroxinitritului. Stresul oxidativ în mitocondrii afectează permeabilitatea membranară cu micşorarea potenţialului transmembranar, diminuarea sintezei şi rezervelor de ATP şi eliberarea proteinelor intermembranare responsabile de fragmentarea tipică a ADN nuclear. S-a demonstrat că antioxidanţii (silimarina) manifestă efecte protectoare faţă de afecţiunea hepatică indusă de acetaminofen, iar N-acetilcisteina prin restabilirea nivelului GSH contribuie la captarea NAPQI şi detoxicarea SRO şi SRN (Kozer E et al., 2003, Al-Sowyan N.S., 2009, Muriel P., 2009).

Într-un studiu randomizat dublu-orb s-a constatat că acetaminofenul, utilizat în doze de 4 g/zi la persoanele ce consumă alcool (1-3 băuturi pe zi), nu determina modificări ale activităţii AlAT, AsAT şi bilirubinei la a 4 zi, dar la a 11 zi activitatea AlAT era în creştere, deşi nu surveneau simptome clinice (Heard CH. et al., 2007).

În studii experimentale s-a constatat că alcoolul creşte hepatotoxicitatea paracetamolului prin activarea CYP 3A4 şi 2E1. În acelaşi timp, triacetiloleandomicina, care inhibă activitatea CYP 3A4, reduce hepatotoxicitatea analgezicului la animale (Wolf K.K.et al., 2007).

Datele experimentale au fost confirmate prin studiile clinice când la pacienţii intoxicaţi cu paracetamol s-a stabilit o corelaţie dintre nivelul complexelor NAPQI + proteine în ser cu gravitatea intoxicaţiei, precum şi cu activitatea transaminazelor (Hinson J.A. et al., 2010).

Acetaminofenul este cel mai adecvat remediu pentru modelarea afecţiunii ficatului. În acest model, formarea metabolitului toxic (NAPQI), a ductelor acestuia cu proteinele, depleţia GSH, stresul oxidativ, disfuncţia mitocondriilor, modificarea fluxului sangvin şi inflamaţia sunt verigile principale în patogeneza leziunii hepatice. Recent s-a demonstrat că sistemul imun înnăscut poate contribui la severitatea hepatotoxicităţii paracetamolului prin producerea citochinelor proinflamatorii şi altor factori prooxidanţi ce pot preceda transformările metabolice cu formarea NAPQI (Masson M.J.et al., 2008).

**Modificarea fluxului sangvin hepatic.** Hepatotoxicitatea, indusă de paracetamol, se caracterizează (la rozatoare şi oameni) printr-o congestie hepatică. La şoricei congestia hepatică survine mai devreme şi înainte de apariţia necrozei. Studiile morfologice au relevat acumularea de eritrocite în vacuolele endocitelor şi spaţiile Disse cu o prăbuşire în lumenul sinusoidal. Peste 1,5 ore de la administrarea dozelor toxice de acetaminofen s-a constatat o creştere a eritrocitelor în ficat care atinge un maximum la 6 ore şi se micşorează peste 24 ore, manifestându-se prin majorarea hemoglobinei la 6 ore şi reducerea ei peste 24 ore, însoţită de blocada fluxului sangvin. Micşorarea masei ficatului între 6 şi 24 ore se asocia cu intensificarea activităţii transaminazelor în ser, ce indică despre citoliza hepatocitelor. Majorarea masei ficatului şi hemoglobinei se solda cu diminuarea dramatică a presiunii intrahepatice şi presiunea în vena portă. N-acetilcisteina, administrată peste 3 ore după acetaminofen, a ameliorat dereglările respective. Unii autori au menţionat apariţia

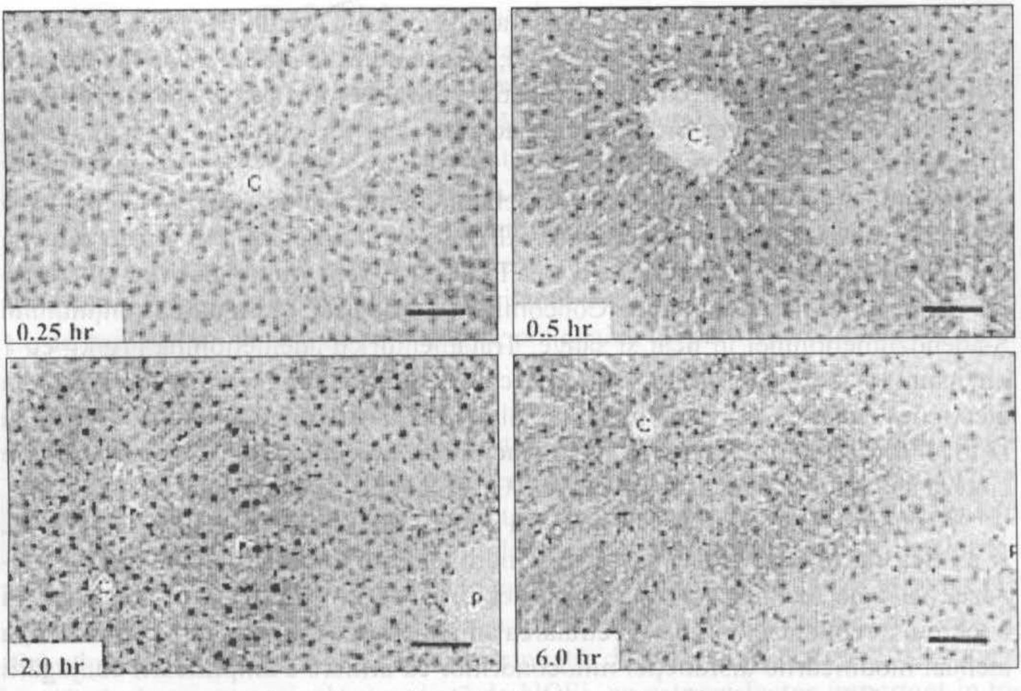


**Fig. 1.2.1.3. Cercetările imunohistochimice ale ficatului la intoxicaţia cu acetaminofen**
(după Hinson J.A.et al., 2010).

unor dereglări microvasculare în zona centrolobulară în cazul intoxicaţiei cu paracetamol (Hinson J.A. et al., 2010).

În studiile *in vitro* s-a demonstrat că celulele endoteliale sinusoidale ale ficatului conţin enzimele citocromului P-450 şi contribuie la activarea paracetamolului cu inducerea hepatotoxicităţii. Datele obţinute relevă că în supradozarea paracetamolului sunt afectate funcţiile celulelor endoteliale sinusoidale în zona centrolobulară şi confirmă ca aceasta este însoţită de micşorarea perfuziei sinusoidale. Dereglările în celulele endoteliale au un rol important în toxicitatea acetaminofenului, iar modificările biochimice sunt asociate cu hepatotoxicitatea analgezicului (Hinson J.A. et al., 2010).

**Stresul oxidativ în intoxicaţia cu paracetamol.** Stresul oxidativ se consideră unul din mecanismele importante în hepatotoxicitatea indusă de analgezic şi care este mediat de ionii de Fe (mecanismul Fenton). Acest mecanism iniţiază formarea ionului superoxid în celule şi desmutarea lui cu producerea de peroxid de hidrogen. Ionul superoxid se poate forma prin mai multe mecanisme, inclusiv mediat de CYP 2E1 şi alte enzime, mitocondrii sau prin activarea NADPH oxidazei. Peroxidul de hidrogen este neutralizat de glutation peroxidază (GPx) pentru activitatea căreia este necesar GSH. În condiţiile intoxicaţiei cu paracetamol se formează metabolitul toxic NAPQI, care contribuie la depleţia nivelului GSH şi respectiv compromite hepatotoxicitatea analgezicului. Astfel, în celulă se induce stresul oxidativ prin mecanismul Fenton, se acumulează peroxizii ce favorizează formarea radicalului hidroxil foarte reactiv. Ultimul oxidează lipidele cu iniţierea POL, precum şi oxidarea proteinelor şi acizilor nucleici (Hinson J.A. et al., 2010, Шифман К.М., Ершов А.А., 2007).

Administrarea intraperitoneală a acetaminofenului (600 mg/kg şi 750mg/kg) la şoricei provoacă creşterea activităţii AlAT şi necroză centrolobulară cu depleţia GSH în citozol şi mitocondrii, activarea POL, disfuncţia mitocondriilor cu creşterea permeabilităţii membranare. Concomitent s-a depistat diminuarea conţinutului S-adenozilmetioninei în ficat şi sânge. Tratamentul cu ademetionină (1g/kg cu 1 oră înainte şi 4 ore după acetaminofen) a contribuit la ameliorarea modificărilor din afecţiunea hepatică cu restabilirea nivelului GSH, S-adenozilmetioninei şi funcţiei mitocondriilor datorită participării în reacţiile de transulfatare, transmetilare şi de sinteză a GSH în calitatea de precursor (Oz H.S.et al., 2004, Song Z.et al., 2004).

Acetaminofenul la şobolani în doza de 640 mg/kg intern, a intensificat POL şi a micşorat nivelul GSH, izocitrat dehidrogenazei, alfa-ketoglutarat dehidrogenazei, succinat dehidrogenezei, malat dehidrogenazei, NADH dehidrogenazei şi citocrom c reductazei în ficat. Pretratarea animalelor cu antioxidant (D-limonen) a atenuat modificările disfuncţiei mitocondriilor ca urmare a amplificării conjugării metabolitului toxic prin menţinerea nivelului GSH (Devi K.P.et al., 2005).

Dozele toxice de paracetamol (200-300 mg/kg) micşorează nivelul GSH şi cresc cuplarea covalentă a NAPQI cu proteinele mitocondriilor ceea ce cauzează inhibarea parţială a respiraţiei şi intensificarea producerii de SRO de către acestea. Depleţia GSH este un factor important în majorarea nivelului SRO produse de mitocondrii, deoarece GSH este un factor esenţial pentru GPx care inactivează peroxidul de hidrogen în matricea mitocondriilor. Speciile reactive ale oxigenului, produse de mitocondrii, activează mai multe căi (c-Jun N-terminală chinaza, glicogen sintaza chinaza, protein chinaza beta etc.) de transducţie a semnaleleor în citoplasmă la pretratarea cu acetaminofen (Jones D.P.et al., 2010).

Toxicitatea acetaminofenului este cauzată de metabolizarea prin intermediul CYP 2E1 în metabolitul NAPQI ce induce stresul oxidativ cu diminuarea inactivării SRO de GSH (Russmann S.et al., 2009).

Un rol important în inducerea şi/sau menţinerea stresului oxidativ îl poate avea oxidul nitric (NO). În anumite condiţii, NO poate interacţiona cu ionul superoxid cu viteză mare cu formarea peroxinitritului care reprezintă un agent oxidant şi nitrant. Peroxinitritul este detoxicat de GSH, nivelul căruia este micşorat în intoxicaţia indusă de paracetamol de către NAPQI. În aceste condiţii se poate iniţia stresul nitric cauzat de interacţiunea peroxinitritului cu tirozina cu formarea 3-nitroxitirozinei (un biomarker unical) şi a proteinelor nitrate, care pot fi un marcher al stresului nitric. Astfel, s-a constatat că în ficatul şoriceilor, intoxicaţi cu acetaminofen, s-a depistat un nivel crescut de 3-nitrotirozină în proteinele hepatice din regiunile centrolobulare. Nitrotirozina se conţine în aceleaşi celule ce includ şi complexe ale acetaminofenului cu proteinele şi corelează cu dezvoltarea necrozei. Totodată, proteinele nitrate nu s-au depistat în zonele periportale la animalele tratate cu paracetamol sau cele din lotul de control (cărora li s-a administrat soluţia salină) (*fig. 1.2.1.3*). Datele relatate sugerează că speciile reactive ale oxigenului şi azotului joacă un rol critic în dezvoltarea hepatotoxicităţii cu acetaminofen (Hinson J.A. et al., 2010, Шифман К.М., Ершов А.А., 2007).

Peroxinitritul, de rând cu formarea nitrotirozinelor, reprezintă un oxidant foarte puternic, capabil să afecteze structurile membranare ale ficatului. Efectele peroxinitritului în cazul deficitului sistemului antioxidant sunt mai accentuate. Reacţiile de oxidare, provocate de peroxinitrit, pot evalua cu participarea unui sau a doi electroni. Este confirmat rolul anionului în oxidarea lipidelor, proteinelor şi ADN (Шифман К.М., Ершов А.А., 2007).

Acetaminofenul în doze toxice la animalele experimentale induce nitroxidsintetaza inductibilă (NOSi) în zonele centrolobulare, iar tratamentul cu aminoguanină, inhibitorul NOSi, reduce hepatotoxicitatea paracetamolului. Concomitent studiile pe şoricei nocauţi cu NOSi au demonstrat că la administrarea dozelor toxice de analgezic activitatea AlAT era cu 50% mai mică decât la cei normali (cu păstrarea NOSi.). În acelaşi timp nu s-a depistat diferenţă în tabloul histologic al ficatului, iar nitrarea proteinelor era diminuată, dar nu exclusă. Aceste date sugerează că nitrarea proteinelor, mediată de NOSi, nu este un factor important în toxicitatea paracetamolului. Ulterior s-a demonstrat că toxicitatea acetaminofenului este redusă la şoriceii nocauţi faţă de NOSi (Hinson J.A. et al., 2010).

Mecanismul inducerii speciilor reactive ale oxigenului şi/sau ale azotului poate fi datorat generării de CYP 2E1 şi alte enzime, activării NADPH oxidazei şi eliberării de mitocondrii. S-a constatat că evenimentul critic este producerea anionului superoxid ceea ce duce la formarea peroxidului de hidrogen şi peroxinitriţilor în celulă. Se consideră că rolul principal în hepatotoxicitatea acetaminofenului în revine CYP 2E1, ipoteză confirmată pe şoriceii CYP 2E1 nocauţi. În aceste condiţii, la scindarea paracetamolului odată cu producerea NAPQI se induce stresul oxidativ în hepatocite. Astfel, s-a demonstrat că şoriceii nocauţi CYP2E1 sunt mai puţin sensibili la preparat, iar cei nocauţi prin CYP 2E1 şi 1A2 erau şi mai sensibili, dovadă a implicaţiei CYP 1A2 în formarea metabolitului toxic (Hinson J.A. et al., 2010).

Un alt mecanism al stresului oxidativ în intoxicaţia cu acetaminofen este stresul oxidativ indus de neutrofile. Mieloperoxidazele neutrofilelor, prin interacţiunea peroxidului de hidrogen cu clorul, formează hipoclorit şi reziduuri tirozinice – 3-clorotirozine, responsabile de endotoxemie (deoarece 3-clorotirozina nu este detectată în ficat) şi de creşterea toxicităţii acetaminofenului. S-a constatat că diminuarea numărului neutrofilelor la şoricei îi protejează de hepatotoxicitatea paracetamolului, confirmată prin micşorarea activităţii AlAT, necrozei centrolobulare şi supravieţuirea animalelor (Hinson J.A. et al., 2010).

Celulele Kupffer sau macrofagele hepatice pot fi o sursă a speciilor reactive ale oxigenului, NO cu amplificarea stresului oxidativ. Concomitent, acestea pot fi sursă de enzime hidrolitice, eicosanoide, citochine proinflamatorii (IL-6, IL-1, TNF alfa). În cazul inhibiției activității fiziologice a celulelor Kupffer s-a demonstrat creșterea rezistenței animalelor la dozele toxice de paracetamol (Шифман К.М., Ершов А.А., 2007).

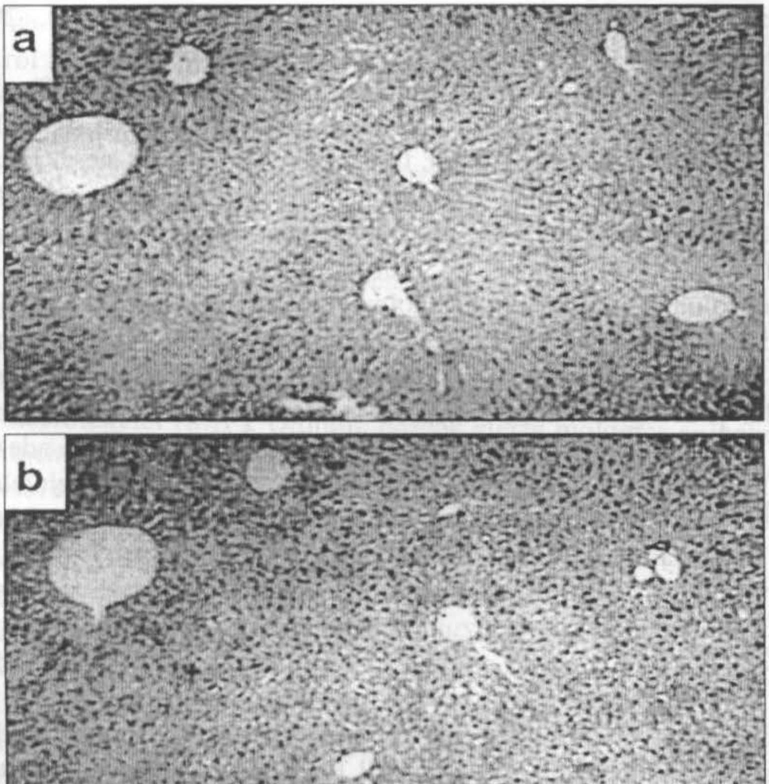
**Disfuncția mitocondriilor în intoxicația cu paracetamol.** Mitocondriile sunt afectate de paracetamol prin metabolitul toxic, arilarea proteinelor și dereglarea homeostazei calciului. S-a relatat despre inhibarea lanțului respirator I și II, dar nu III, în hepatocitele izolate și *in vivo*. De asemenea, în hepatocitele pretratate cu paracetamol și metabolitul NAPBQ, s-a constatat depleția ATP, posibil datorită creșterii nivelului calciului în celulă prin eliberarea din depo (Hinson J.A. et al., 2010).

Un mecanism important în hepatotoxicitatea acetaminofenului se consideră creșterea permeabilității membranei mitocondriale asociată cu modificarea potențialului membranar al mitocondriilor în stresul oxidativ și condiții toxice. Oxidanții, precum peroxizii, și calciul contribuie la creșterea permeabilității membranei mitocondriilor și, de rând cu nivelul majorat al peroxizilor în hepatocite, intensifică hepatotoxicitatea analgezicului. Inhibitorii permeabilității membranei mitocondriale (ciclosporina A, trifluoperazina) preîntâmpină hepatotoxicitatea preparatului la animalele experimentale (Hinson J.A. et al., 2010).

Peroxinitritul este un produs important ce cauzează majorarea permeabilității membranei mitocondriale indusă de paracetamol. S-a relatat că procesele de nitrare în hepatotoxicitatea indusă de paracetamol au loc preponderent în mitocondrii, ceea ce sugerează ipoteza că în acestea funcționează o izoformă a NOS, numită NOSm. Creșterea permeabilității membranei mitocondriilor este urmată de formarea porilor, diminuarea producerii energiei, eliberarea citocromului C, endonucleazei G și factorilor ce induc apoptoza în citosol. Micșorarea producției de ATP contribuie la dezvoltarea necrozei, în timp ce infuzia cu fructoză, care generează producerea substratelor glicolitice pentru ATP și glicină, reduce procesele necrotice și fac să predomine cele apoptotice (Hinson J.A. et al., 2010).

**Inflamația, citochinele și chemochinele în hepatotoxicitatea paracetamolului.** Datele referitor la rolul citochinelor și chemochinelor în hepatotoxicitatea acetaminofenului sunt contradictorii. Unele date denotă că preparatul activează celulele Kupffer cu majorarea nivelului atât a citochinelor proinflamatorii, cât și antiinflamatorii (Hinson J.A. et al., 2010, Шифман К.М., Ершов А.А., 2007).

Citochinele au funcții importante în imunitate, inflamație, proliferarea, diferențierea și moartea celulelor. Astfel, e cunoscut cu TNF alfa intensifică stresul oxidativ (formarea SRO și SRN), precum și activează alte celule inflamatorii. Unii autori au demonstrat că intoxicația cu acetaminofen crește nivelul TNF -alfa și IL-1 alfa la șoricei, iar neutralizarea imună a TNA-alfa și IL-1 alfa e capabilă, pe un timp, să reducă gradul de afectare a ficatului. Ulterior s-a relevat că inactivatorii celulelor Kupffer (clorură de gadoniu și dextran sulfat) micșorează toxicitatea acetaminofenului, ce a permis de a conchide că celulele Kupffer mediază răspunsul



a) secţiunea ficatului colorată (roşu) pentru identificarea aductelor acetaminofen+proteine folosind un antiser antiacetaminofenic; b) secţiunea ficatului colorată pentru identificarea nitrotirozinei în proteine, utilizând un antiser antinitrozinic; c) secţiunea ficatului la animalele din lotul de control colorată pentru identificarea nitrotirozinei în proteine, utilizând antiserul antinitrozinic.

**Fig 1.2.1.4. Imunohistochimia ficatului peste 4 ore după tratarea cu acetaminofen, 300 mg/kg.**

proinflamator în toxicitatea indusă de analgezic (Hinson J.A. et al., 2010, Roth R.A., Ganey P.E., 2010, Шифман К.М., Ершов А.А., 2007).

Tratarea cu paracetamol a animalelor cu eliminarea celulelor Kupffer a redus nivelul crescut în intoxicaţie a mARN TNF-alfa şi altor citochine (IL-6, IL-18 Bp, IL-10, COX) şi care corela cu AlAT în ser. Însă sunt şi date care nu atestă rolul celulelor Kupffer în inducerea inflamaţiei, ci importanţa lor în procesele reparative. De asemenea, nu este definitivat şi rolul TNF-alfa în toxicitatea paracetamolului (Hinson J.A. et al., 2010, Шифман К.М., Ершов А.А., 2007).

Studiul rolului IFN gama în hepatotoxicitatea acetaminofenului a demonstrat că la şoricii trataţi cu analgezic este crescut nivelul ARNm al IFN gama, iar animalele nocaute IFN gama sunt mai puţin afectate de paracetamol (majorarea transaminazelor şi dereglările morfologice). La aceşti şoricei s-a atenuat transcripţia ARNm a citochinelor inflamatorii, chemochinelor, moleculelor de adeziune, acizilor graşi nesaturaţi şi NOSi. Concomitent s-a raportat că NK-celulele şi NKT-celulele sunt celulele primar importante pentru inducerea IFNgama în toxicitatea indusă de paracetamol (Hinson J.A. et al., 2010).

E cunoscut rolul IL-6 în regenerarea hepatocitelor. În studiile experimentale s-a depistat că la depleţia IL-6 rezultă o majorare a sensibilităţii la acetaminofen, iar la şoriceii nocauţi cu IL-6 a crescut toxicitatea preparatului şi s-a redus formarea proteinelor de şoc (HSP 25,32 şi 40), precum şi inducerea HSP 70. Utilizarea N-acetilcisteinei protejează de toxictatea paracetamolului şi atenuează, dar nu previne, formarea de aducte sau inducţia HSP. Pretratamentul cu un inhibitor al CYP 2E1 (dialilsulfid) inhibă inducţia HSP 25 şi HSP 70 şi toxicitatea analgezicului dovadă că izoenzima respectivă mediază stresul oxidativ şi joacă un rol cheie în inducerea HSP în toxicitatea acetaminofenului (Hinson J.A. et al., 2010).

Interleuchinele antiinflamatoare IL-10, IL-11 şi IL-13 pot modula răspunsul proinflamator în afecţiunile hepatice. Ficatul este o sursă majoră de IL-10 şi mai multe tipuri de celule, inclusiv celulele Kupffer activate, limfocitele T şi B. S-a constatat că la şoriceii nocauţi cu IL-10 creşte toxicitatea acetaminofenului şi formarea de TNF-alfa, IL-1, NO (Hinson J.A. et al., 2010).

Interleuchina 11 protejează în condiţii experimentale mai multe organe de inflamaţie prin diminuarea producerii citochinelor proinflamatorii sau reducerea activităţii macrofagelor. Pretratamentul şoriceilor cu IL-11 umană recombinată micşorează activitatea AlAT şi nivelul TNF-alfa, precum şi previne modificările histologice (Hinson J.A. et al., 2010).

Interleuchina 13 reduce toxicitatea acetaminofenului, pe când şoriceii nocauţi de IL-13 sunt sensibili la hepatotoxic. Recent s-a constatat că IL-13 modulează IFN gama, NO şi celulele inflamatoare, precum neutrofilele, NK şi NKT – celulele. Raportul dintre citochinele pro şi antiinflamatoare este determinată genetic, fapt confirmat şi în studiile clinice (Hinson J.A. et al., 2010).

Studiile au demonstrat că un rol importnat în hepatotoxicitatea acetaminofenului îl pot avea JNK chinazele, TNFalfa, IFN gama, FasL, IL-10 şi IL-6, care ca rezultat duce la formarea NAPQI şi consumarea GSH. Ulterior s-a arătat că GSH joacă un rol important în reglarea proceselor. Astfel, depleţia GSH este responsabilă de creşterea afecţiunii hepatice pe un model de leziune a ficatului indusă de TNFalfa. Mecanismele ar putea avea la bază creşterea activităţii chinazelor, micşorarea protecţiei mitocondriilor faţă de stresul oxidativ sau inhibarea de TNFalfa a inducerii activităţii factorului nuclear –kB (Russmann S.et al., 2009).

Chemochinele de asemenea pot juca un rol important în toxicitatea paracetamolului. Aceste molecule cu masă moleculară mică, ca şi citochinele, iniţial au fost recunoscute pentru rolul lor în chemotaxisul limfocitelor. În plus, câteva clase de chemochine pot avea proprietăţi angiogenice, regeneratoare, de proliferare sau antiinflamatoare. În intoxicaţia cu acetaminofen e crescut nivelul factorului ce inhibă migrarea macrofagelor (MIF). Ultimul, posedă efecte biologice şi include proprietăţi de citochine, hormon şi enzimă. Factorul de migrare a macrofagelor poate creşte nivelul citochinelor proinflamatoare, moleculelor de adeziune, expresia matricei metaloproteinazei 2, eliberarea NO şi COX-2, inhibă producerea endogenă de glucocorticoizi (Hinson J.A. et al., 2010).

Proteina inhibitoare a macrofagelor (MIP-2), un prototip al chemochinelor, este produsă de mai multe tipuri de celule ca răspuns la citochinele proinflamatoare, TNF-alfa şi IL-1 beta. S-a constatat că MIP-2 joacă un rol protector în toxicitatea indusă de paracetamol (Hinson J.A. et al., 2010).

Ciclooxigenaza-2, enzimă inductibilă, se consideră un mecanism antiinflamator prin producerea prostaglandinelor ce joacă un rol protector în diferite intoxicaţii, inclusiv acetaminofen. Astfel, la animalele nocaut cu COX-2 creşte toxicitatea preparatului. Efect similar s-a obţinut şi la utilizarea inhibitorilor selectivi ai acesteia, celecoxibului. Datele respective denotă rolul antiinflamator al COX-2 în hepatotoxicitatea indusă de paracetamol (Hinson J.A. et al., 2010).

**Căile intracelulare ale mecanismelor toxicităţii paracetamolului.** Chinazele c-Jun-N-terminale (JNKs), o subfamilie de chinaze proteice mitogen activate (MAP), se activează prin fosforilare *in vitro* şi *in vivo* în intoxicaţia cu acetaminofen. Speciile reactive ale oxigenului, precum şi TNF-alfa, mediază activarea JNKs. S-a raportat că incubarea cu acetaminofen a hepatocitelor de şoricei a cauzat inducerea activităţii JNK, care era inhibată de inhibitorul său specfic (SP600125). *In vivo* acest inhibitor proteja şoriceii de efectul toxic al paracetamolului prin alterarea formării metabolitului reactiv. În acelaşi timp acest inhibitor nu influenţa asupra depleţiei GSH şi formării aductelor covalente cu proteinele. Unii autori au raportat rezultate similare, precum şi faptul că compusul SP600125 inhiba necroza hepatocitelor şi era mai efectiv ca N-acetilcisteina în limitarea afecţiunii. În acord cu rolul JNKs în activarea toxicităţii acetaminofenului s-a constatat că leflunomidul, un preparat antireumatic, inhibă activarea JNK în ficat şi blochează evoluţia toxicităţii analgezicului (Hinson J.A. et al., 2010).

Activarea JNKs poate fi un mecanism asociat cu iniţierea tranziţiei permeabilităţii mitocondriilor. S-a discutat şi rolul activării JNKs de a influenţa intensificarea stresului oxidativ. Permeabilitatea membranelor mitocondriilor, pe lângă stresul oxidativ, poate cauza perturbarea potențialului transmembranar al mitocondriilor și capacitatea acestora de a sintetiza ATP. S-a determinat că lefludomidul protejază șoriceii de creșterea permeabilității membranare. În homogenatul ficatului s-a relevat că depleția GSH are loc peste 1-2 ore, activarea JNKs – peste 2-4 ore, creșterea permeabilității membranei miitocondriale – peste 4 ore, iar a activității AlAT – peste 6 ore. Antagonistul specific nu a preîntâmpinat depleția GSH, dar a blocat activarea JNKs, majorarea permeabilității și manifestarea toxicității (creșterea AlAT). În mitocondriile tratate cu acetaminofen s-a micșorat lanțul respirator III al respirației și rata controlului respirator, în timp ce șoriceii tratați cu inhibitorul JNKs au fost parțial protejați de aceste dereglări. S-a concluzionat că JNKs activate sunt un important mediator al permeabilității membranare, induse de paracetamol (Hinson J.A. et al., 2010).

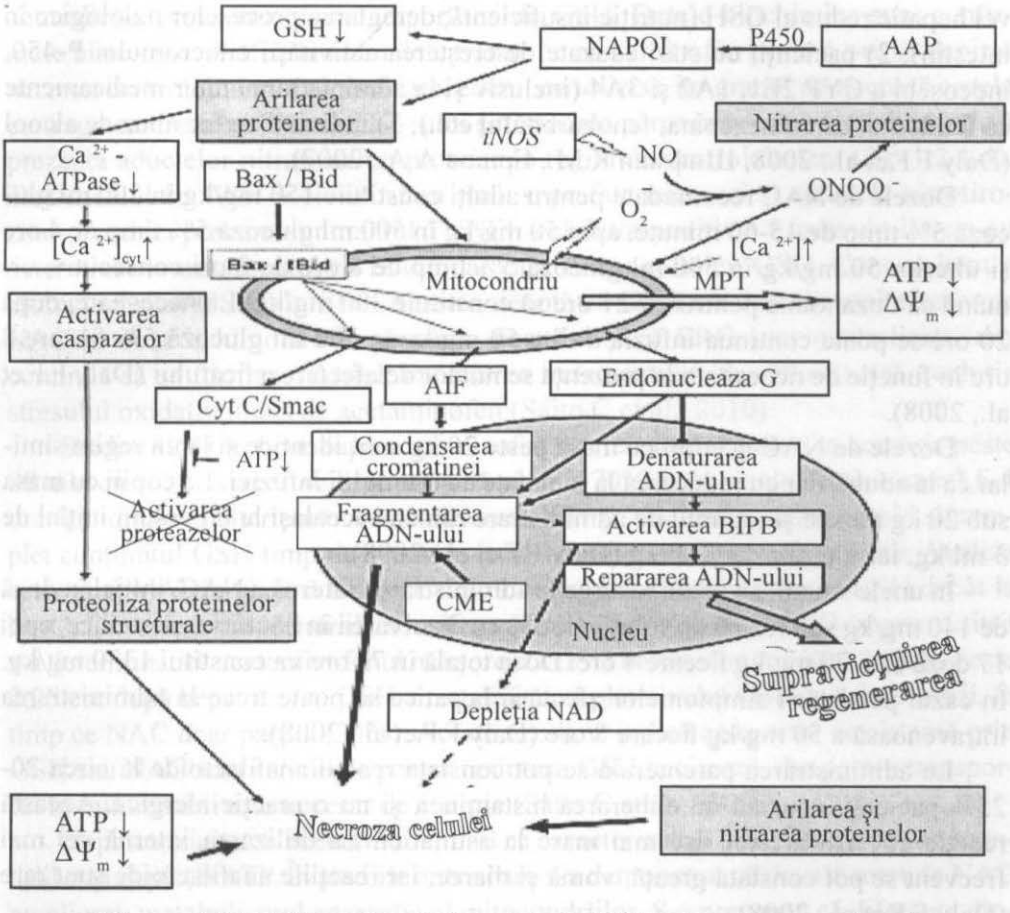
Fragmentarea ADN poate fi un alt mecanism implicat în hepatotoxicitatea acetaminofenului. S-a relatat că fragmentarea ADN urma un paralelism cu hepatotoxicitatea și era asociată cu un nivel înalt al calciului în nucleu, posibil, prin intermediul unei endonucleaze calciu-dependente. Un inhibitor al endonucleazei și un chelator al calciului au micșorat fragmentarea ADN și toxicitatea paracetamolului. Antagonistul calciu-calmodulinei (clorpromazina) și antagonistul calciului (verapamil) la șoricei micșorau necroza și fragmentarea ADN indusă de preparat. S-a raportat că endonucleaza G, prezentă în mitocondrii, este importantă în fragmentarea nucleului indusă de analgezic în cazul creșterii permeabilității membranare a mitocondriilor (Hinson J.A. et al., 2010).

Analiza rezultatelor estimate denotă că hepatotoxicitatea paracetamolului poate fi sumată prin schema 1.2.1.5.

Paracetamolul, în afară de afectarea ficatului, poate induce lezarea zonei medulare a rinichilor. Aceasta are loc prin intermediul prostaglandinsintetazei, al cărei nivel este mai înalt în rinichi decât a citocromului P-450, când se formează un radical liber N-acetil-benzosemichinonimină, care se poate cupla cu proteinele rinichilor. Acest metabolit intermediar, cu participarea prostaglandinsintetazei, se poate transforma în NAPQI sau cupla cu GSH cu trecerea ulterioară în paracetamol. Atât metabolitul intermediar, cât și NAPQI la cuplarea cu proteinele sunt responsabili de necroza țesutului cu dezvoltarea nefropatiei (Forte J.S., 2002).

**Tratamentul intoxicației cu paracetamol.** N-acetilcisteina este un predecesor al GSH, precum și o sursă de SH grupe ce contribuie la detoxicarea compușilor intermediari. O importanță secundară pot avea proprietățile antioxidante (preîntâmpinarea POL) și de captare a radicalilor liberi (Daly F.F.et al., 2008)

Se consideră că N-acetilcisteina (NAC) este cu atât mai efectivă cu cât mai precoce se folosește în intoxicația cu paracetamol. În acest caz, mecanismul NAC se reduce la accelerarea sintezei GSH în ficat, care contribuie la inactivarea NAPBQ și, astfel, reduce formarea complexelor acestuia cu proteinele. Însă s-a constatat că NAC poate fi efectivă la utilizarea peste 24 ore de la intoxicația cu paracetamol când nu este preparat pentru formarea NAPBQ. Aceasta a permis să se conchidă


GSH ↓
NAPQI
P450
AAP
Arilarea proteinelor
iNOS
NO
Nitrarea proteinelor
Ca 2+ - ATPase ↓
Bax / Bid
ONOO -
O2
[Ca 2+]cyt ↑
Bax / tBid
Mitocondriu
[Ca 2+]↑
MPT
ATP ↓ ΔΨm ↓
Activarea caspazelor
AIF
Endonucleaza G
Cyt C/Smac
Condensarea cromatinei
ATP↓
Denaturarea ADN-ului
~~Activarea proteazelor~~
Fragmentarea ADN-ului
Activarea BIPB
Repararea ADN-ului
Proteoliza proteinelor structurale
CME
Nucleu
Supravieţuirea regenerarea
Depleţia NAD
ATP ↓ ΔΨm ↓
Necroza celulei
Arilarea şi nitrarea proteinelor

**Schema 1.2.1.5. Mecanismele hepatotoxicităţii induse de paracetamol**
(după Jaeschke H., Bajt M.L., 2006).

Abrevieri: AAP – acetaminofen; AIF – factorul ce induce apoptoza; CME – endonucleaza nucleară $Ca^{2+}Mg^{2+}$-dependentă; cyt – citosol; cyt c – citocromul c; $\Delta\Psi_{m}$ – potenţialul membranei mitocondriale; GSH – glutationul redus; iNOS – nitorxid sintetaza inductibilă; MPT – permeabilitatea membranei mitocondriale; NAPQI – N-acetil benzochinonimina; NO – oxidul nitric sau monoxidul de azot; ATP – adenozintrifosfatul; $ONOO^-$ - peroxinitritul; $O_2^{\cdot}$ - anionul superoxid, Smac – derivatul mitocondrial de activare a caspazelor.

că există şi alte mecanisme de protecţie, întrucât NAC manifestă efecte benefice şi în cazul când nu se determină depleţia GSH (Daly F.F.et al., 2008, Saito C. et al., 2010, Шифман К.М., Ершов А.А., 2007).

Efectul toxic al paracetamolului se realizează la concentraţii peste 150 mg/l, însă sunt şi categorii de bolnavi la care hepatotoxicitatea se poate dezvolta şi la concentraţii mai mici. Printre aceştea se evidenţiază 3 grupe: 1) persoanele cu nivel hepatic redus al GSH (nutriţie insuficientă, dereglarea proceselor fiziologice în intestin); 2) pacienţii cu stări cauzate de creşterea activităţii citocromului P-450, îndeosebi a CYP 2E1, 1A2 şi 3A4 (inclusiv şi la administrarea unor medicamente ca fenitoina, carbamezepina, fenobarbitalul etc.); 3) indivizii ce fac abuz de alcool (Daly F.F.et al., 2008, Шифман К.М., Ершов А.А., 2007).

Dozele de NAC recomadate pentru adulţi constituie 150 mg/kg în 200 ml glucoză 5% timp de 15-60 minute, apoi 50 mg/kg în 500 ml glucoză 5% timp de 4 ore şi ulterior 50 mg/kg în 500 ml glucoză 5% timp de 8 ore de 2 ori consecutiv, urmând ca doza totală pentru 20-21 ore să constituie 300 mg/kg. La necesitate, după 20 ore se poate continua infuzia a câte 50 mg/kg în 500 ml glucoză 5% fiecare 8 ore în funcţie de necesitate la prezenţa semnelor de afectare a ficatului (Daly F.F.et al., 2008).

Dozele de NAC la copii cu masa peste 20 kg sunt identice şi la un regim similar ca la adulţi, dar cu reducerea la jumătate a volumului infuziei. La copiii cu masa sub 20 kg dozele şi regimul de administrare rămâne acelaşi la un volum iniţial de 3 ml/kg, iar ulterior de 7 ml/kg (Daly F.F.et al., 2008).

În unele situaţii se poate recurge la administrarea internă a NAC, iniţial în doză de 140 mg/kg sub formă de soluţie de 5% cu dizolvarea în băuturi nealcoolice, apoi 17 doze câte 70 mg/kg fiecare 4 ore. Doza totală în 72 ore va constitui 1330 mg/kg. În cazul persistării simptomelor afectării hepatice se poate trece la administrarea intravenoasă a 50 mg/kg fiecare 8 ore (Daly F.F.et al., 2008).

La administrarea parenterală se pot constata reacţii anafilactoide la circa 20-25% pacienţi, cauzată de eliberarea histaminei, şi nu o reacţie alergică. Această reacţie adversă are un risc mai mare la astmatici. La utilizarea internă cel mai frecvent se pot constata greaţă, vomă şi diaree, iar reacţiile anafilactoide sunt rare (Daly F.F.et al., 2008).

Studiul mecanismelor toxicităţii paracetamolului a demonstrat că cuplarea cu proteinele este un moment iniţial esenţial care necesită propagare şi amplificare. Acestea sunt disfuncţia mitocondriilor şi stresul oxidativ. Administrarea intravenoasă a GSH după acetaminofen restabileşte efectiv conţinutul GSH în mitocondrii, care captează SRO şi peroxinitritul ce micşorează hepatotoxicitatea preparatului şi induce regenerarea. Efect similar a provocat şi NAC. Aceste date au sugerat ipoteza că suplimentarea cisteinei poate fi implicată în al doilea mecanism de protecţie – epurarea SRO şi peroxinitritului (Saito C.at al., 2010).

La injectarea intraperitoneală a acetaminofenului (300 mg/kg) peste 6 ore se constată dezvoltarea afecţiunii toxice confirmată prin majorarea activităţii AlAT şi declanşarea stresului oxidativ. Ultimul era relevat prin creşterea nivelului glutationului oxidat (GSSG) şi a raportului GSSG/GSH. Administrarea GSH şi NAC peste 1,5 ore după acetaminofen se solda cu diminuarea activităţii transaminazei (cu 82% şi 46% respectiv), restabilirea nivelului GSH şi menţinerea raportului GSSG/GSH, deşi conţinutul GSSG continua să crească. Aceste date denotă despre continuarea formării SRO după tratarea cu GSH şi NAC, dar care mai efectiv sunt neutralizate prin intensificarea aportului de GSH. Datele biochimice sunt confirmate histologic. Astfel, la animalele tratate cu acetaminofen peste 6 ore se depista necroza centrolobulară (vacuolizare, edem, cariolizis), iar gradul de necroză corela cu fragmentarea masivă a ADN – ului şi formarea peroxinitritului despre ce indică prezenţa aductelor nitrotirozino-proteice în regiunile centrolobulare (fig. 1.2.1.4). Tratamentul cu GSH a diminuat cu mult suprafaţa necrozei şi aductele nitrotirozino-proteice, precum şi numărul TUNEL-celulelor pozitive. Efecte similare s-au determinat la tratamentul cu NAC, dar care cedau celui cu GSH. Concomitent a crescut nivelul GSSG în ficat. Acestea denotă că GSH s-a dovedit mai efectiv ca NAC în doze echimolare în protecţia ficatului şi că SRO sunt neutralizate, dar continuă să se formeze. Astfel, întârzierea tratamentului nu influenţează evoluţia stresului oxidativ indus de acetaminofen (Saito C.et al., 2010).

Studiul GSH în ficat după acetaminofen a relevat o micşorare a acestuia peste 30 min cu 86% cu o restabilire spontană până la 70% de la nivelul iniţial între 2,5-4 ore fără dinamic ulterioară. Administrarea GSH şi NAC au restabilit rapid şi complet conţinutul GSH timp de 1 oră cu creşterea ulterioară timp de 1,5 ore. Analiza activităţii AlAT în plasmă a demonstrat un efect benefic mai mare la GSH decât la NAC. Deoarece mitocondriile sunt ţinta şi sursa principală de SRO şi peroxinitrit s-a determinat că acetaminofenul micşorează GSH în mitocondrii până la 90% peste 2,25 ore după hepatotoxic. GSH a restabilit complet nivelul GSH în mitocondrii, în timp ce NAC doar parţial (34%). Aceste rezultate indică că aportul de cisteină prin GSH sau NAC sunt suficiente pentru resinteza GSH în citozol, dar pentru transportul în mitocondrii este necesar de energie (Saito C.at al., 2010).

Hepatotoxicitatea acetaminofenului se caracterizează prin disfuncţia mitocondriilor şi depleţia ATP. În studiile anterioare s-a demonstrat că dozele mari de NAC ameliorau metabolismul energetic al mitocondriilor. S-a presupus că diferenţa dintre eficacitatea GSH şi NAC poate fi determinată de influenţa asupra metabolismului energetic al mitocondriilor (Saito C. et al., 2010).

Studiul conţinutului ATP peste 2,25 şi 6,75 ore după administrarea acetaminofenului a arătat că nivelul ATP era micşorat cu 66% şi 42% respectiv. În aceste condiţii, GSH normaliza conţinutul ATP, iar NAC majora nesemnificativ (până la 70%) în ambele intervale de timp. Astfel, GSH contribuie la reglarea metabolismului energetic al mitocondriilor prin creşterea formării glutationului şi succinatului în termenele precoce în comparaţie cu animalele tratate numai cu analgezic, care se poate continua şi în cele tardive (6,75 ore). N-acetilcisteina în aceste condiţii era mai puţin eficientă în menţinerea metabolismului energetic al mitocondriilor (Saito C.et al., 2010).

Pentru a elucida diferenţa între eficacitatea GSH şi NAC s-au folosit doze de 3 ori mai mari de NAC în comparaţie cu 3 aminoacizi (glutamat, glicină şi cisteină) sau 2 aminoacizi (glutamat şi glicină). Dozele mari de NAC şi 3 aminoacizi erau mai eficiente ca dozele mici de NAC în protecţia faţă de acetaminofen şi menţinerea nivelului ATP, deşi toate regimurile restabileau GSH în ficat. Contrar, componența glutamat și glicină nu restabilea nivelul GSH și nu proteja animalele, deși parțial se ameliora nivelul de ATP în ficat. Astfel, restabilirea ATP-ului se poate explica prin ameliorarea proceselor în ciclul Krebs (Saito C.at al., 2010).

Rezultatele obținute le-au permis autorilor de a elucida mecanismele de protecție. Astfel, în doze mici GSH este mai eficient ca NAC datorită unui conținut mai mare de aminoacizi, folosiți pentru resinteza GSH în ficat, dar metabolizării acestora în calitate de substanțe energetice în ciclul Krebs. Diferența între GSH și NAC se poate corecta prin utilizarea dozelor mari de NAC. Se presupun trei mecanisme de protecție a GSH și NAC în hepatotoxicitatea indusă de acetaminofen (Saito C. et al., 2010)

I. Preîntâmpinarea cuplării covalente cu proteinele.

Glutationul și NAC cel mai efectic protejează prin intensificarea captării NAPQI în ficat ceea ce preîntâmpină cuplarea covalentă cu proteinele cu blocarea inițierii toxicității acetaminofenului. Glutationul administrat intravenos rapid se scindează în ficat în aminoacizi care se absorb repetat și în ficat se folosesc pentru sinteza GSH care neutralizează NAPQI. Deși NAC poate interacționa direct cu NAPQI, s-a demonstrat necesitatea în sinteza GSH. Pentru aceasta, GSH și NAC trebuie administrate în timpul fazei intense de formare a metabolitului toxic al acetaminoifenului. Reținerea utilizării NAC în această perioadă de timp limitează eficacitatea preparatului prin acest mecanism.

II. Epurarea SRO și peroxinitritului.

Cuplarea covalentă a NAPQI cu proteinele mitocondriilor este un moment important ce determină transformarea metabolică a acetaminofenului și disfuncția mitocondriilor. Aceasta duce la inhibarea respirației mitocondriilor cu formarea SRO și peroxinitritului în mitocondrii și dezvoltarea stresului oxidativ cu dereglarea permeabilității membranare și prăbușirea potențialului transmembranar. Stresul oxidativ poate activa chinazele Jun N-terminale cu deschiderea porilor și creșterea permeabilității. Efectele negative ale SRO și SRN sunt amplificate de depleția GSH în mitocondrii și fac mitocondriile și mai susceptibile. Astfel, tratamentul cu GSH și NAC poate restabili nivelul GSH și capta SRO și SRN, asigurând respectiv protecția de stresul oxidativ.

III. Aportul substraturilor energetice pentru mitocondrii.

Glutationul și NAC prin conținutul suficient de cisteină asigură resinteza GSH în celule. Însă între acestea există o diferență relevată prin prezența în GSH a aminoacizilor (glutamat, glicină) ce se vor utiliza ca substanțe energetice în ciclul Krebs. Ameliorarea asigurării cu energie poate fi responsabilă de trecerea GSH din citozol în mitocondrii, fapt ce s-a constatat la utilizarea GSH. Un nivel mai înalt de ATP contribuie la reglarea activității $Na^+K^+$-ATP-azei și $Ca^{++}$-ATP-azei, a căror disfuncție este responsabilă de necroză.

În faza postmetabolică a acetaminofenului, GSH mitocondrial este esențial pentru epurarea SRO și, îndeosebi, a peroxinitritului. Astfel, după tratamentul cu GSH sau NAC de rând cu creșterea GSH în mitocondrii se micșorează conținutul nitrotirozinei (histologic) și zonele de necroză. Astfel, administrarea GSH sau NAC în termenele tardive ale intoxicației cu acetaminofen contribuie la resinteza GSH, care protejează celulele de afectarea prin epurarea SRO și peroxinitritului în mitocondrii. Aminoacizii, ce nu sunt folosiți pentru resinteza GSH, servesc ca substraturi energetice în menținerea energeticii mitocondriilor (Saito C.et al., 2010).

Efectul hepatoprotector al N-acetilcisteinei este mai intens în primele 12 ore după intoxicație. La internarea pacienților, în primele 24 ore, în afară de timpul de la ingerarea acetaminofenului, este importantă și concentrația preparatului în sânge. Corelarea dintre acești doi factori este reflectată în nanograme (de exemplu, nanograma Prescott), în care punctul de reper este concentrația preparatului de 200 mg/l (peste 4 ore), precum și 30 mg/l (peste 15 ore). Contrapunerea nivelului hepatotoxicului la bolnavul concret cu datele nanogramei permite de a determina gradul de terapie intensivă necesară și de a aprecia pronosticul (Шифман К.М., Ершов А.А., 2007).

Tratamentul cu NAC este indicat în cazul când doza paracetamolului este de peste 150 mg/kg (75 mg/kg la bolnavii din grupele cu factori de risc). La internarea pacientului peste 24 ore riscul dezvoltării insuficienței hepatice crește semnificativ datorită acumulării metabolitului toxic (NAPQI) și depleției GSH. Un parametru, care în mare parte determină pronosticul insuficienței hepatice, este timpul protrombinic. Majorarea lui mai mult de 36 sec peste 36 ore de la intoxicație denotă probabilitatea mare de dezvoltare a insuficienței hepatice acute, care, de regulă, se instalează la a 4-5-a zi. Pronosticul nefavorabil este determinat și de instalarea insuficienței poliorganice, relevată prin insuficiența renală acută, hipotensiune arterială, coagulopatie, sepsis, edem cerebral și encefalopatie. Raționalitatea utilizării NAC peste 24 ore după intoxicația cu paracetamol este discutabilă, deși sunt studii care argumentează eficacitatea antidotului (Шифман К.М., Ершов А.А., 2007).

### 1.2.2 Hepatotoxicitatea tetraclorurii de carbon

Tetraclorura de carbon ($CCl_4$) este unul din cei mai vechi derivați halogenați alifatici pe larg utilizat ca solvent industrial, mediu de extracție și agent de degresare. Substanța este de asemenea folosită în sinteza chimică, precum și ca dezinfectant și antihelmintic.

Tetraclorura de carbon se absoarbe bine la inhalare, administrarea internă și cutanată. Astfel, la aplicarea pe piele se determină o depresie a SNC. După administrarea internă a $CCl_4$, peste 24 ore concentrații mari se depistează în măduva osoasă, creier, sânge, rinichi, ficat, splină și pancreas. Peste 24 ore după injectarea subcutană a $CCl_4$ (1,45-3,65 g/kg) la șobolani s-au depistat concentrații mari în țesutul adipos și în sânge, în ficat, în pulmoni și în creier. După administrarea internă a 1ml/kg $CCl_4$, cea mai mare concentrație s-a determinat în oase, apoi în ficat, în rinichi și în mușchi. Nivelul în țesuturi se micșorează timp de 42 ore. Formarea de $CO_2$ din $CCl_4$ este rezultatul dehalogenizării oxidative.

Intoxicația acută cu $CCl_4$ poate fi fatală și cauzată de aritmia cardiacă (crește sensibilitatea miocardului la catecolamine), leziuni pulmonare şi depresia sistemului nervos central.

Tetraclorura de carbon este documentată ca un agent hepatotoxic care provoacă o afectare previzibilă a ficatului. Aceasta se caracterizează prin dependenţa de doză care survine la utilizarea dozelor ce depăşesc capacitatea de metabolizare (supradozare, deficitul substraturilor de conjugare şi coenzimelor, enzimelor de detoxicare); modificarea activităţii enzimelor sub acţiunea inductorilor şi inhibitorilor (Bărăcan A., 2007, Sahreen S.et al., 2011, Куценко С.А., 2002).

Modificările ultrastructurale au loc la nivelul reticulului endoplasmatic al hepatocitelor centrolobulare relevate prin degranulare, fragmentare şi vacuolizare cu o majorare a lizozomilor liberi peste 1 oră după administrarea $CCl_4$. Influenţa asupra reticulului endoplasmatic se asociază cu o depresie a sintezei proteice în ficat, precum şi cu o pierdere a enzimelor microzomiale precum glucozo-6-fosfatazei şi citocromului P-450. Este evidentă, de asemenea, iniţierea infiltrării lipidice relevată prin picături de lipide în citoplasmă. Nivelul trigliceridelor în ficat creşte rapid pe parcursul a 1-3 ore (de la 33 la 195%) după administrarea a 0,25 ml/100 g $CCl_4$. Conţinutul calciului în mitocondrii se dublează timp de 2-4 ore, iar peste 40 ore este de 20 ori mai mare. Peste 5-10 ore se evidenţiază leziuni ale lizozomilor cu majorarea activităţii enzimelor hidrolitice în homogenatul hepatic. Modificările mitocondriilor, relevate prin edem şi sferulare, se depistează peste 10-16 ore, acompaniate de diminuarea funcţiilor precum activitatea oxidativă şi de fosforilare peste 10-20 ore. Hepatocite necrotizate separate se fac vizibile peste 6-8 ore, iar în 24-48 ore se atestă necroză centrolobulară şi infiltraţia lipidică.

Lezarea organitelor celulare de asemenea se reflectă prin apariţia diferitor enzime în ser în anumite intervale de timp. Gradul afecţiunii hepatice depinde de doza $CCl_4$ şi se caracterizează prin acumularea lipidelor, creşterea enzimelor serice, inhibarea sintezei proteinelor şi modificări morfologice.

Acumularea trigliceridelor în ficat este rezultatul perturbării mecanismelor de sinteză şi secreţie a lipoproteinelor în reticulul endoplasmatic.

**Mecanismele hepatotoxicităţii tetraclorurii de carbon.** Citotoxicitatea $CCl_4$ poate fi determinată de următoarele mecanisme: formarea metaboliţilor intermediari toxici; inducerea stresului oxidativ şi peroxidării lipidelor; afectarea membranelor celulare; dereglarea homeostazei calciului intracelular; diminuarea metabolismului energetic şi proceselor metabolice; inhibarea sintezei proteinelor şi multiplicării celulare (Куценко С.А., 2002).

**Formarea metaboliţilor intermediari toxici.** Unele toxice, inclusiv $CCl_4$, se supun proceselor metabolice cu formarea unor metaboliţi intermediari care interacţionează cu moleculele-ţintă cu dereglarea structurii şi funcţiilor lor. Concomitent se pot produce radicali liberi care pot amplifica toxicitatea subtanţei iniţiale. Centri de formare a ultimilor pot servi atomii de azot, carbon, oxigen şi sulf.

Hepatotoxicitatea $CCl_4$ se manifestă prin acţiunea primară şi secundară. Cea primară, specifică, se reduce la dehalogenizarea prin intermediul CYT P-450 şi formarea radicalilor liberi, precum triclormetil ($CCl_3^*$), triclormetilperoxid ($CCl_3OO^*$) şi lipoperoxidici ($LO^*$, $LOO^*$, LOOH) (Adeneye A.A., 2009, Tarantino G.et al., 2009, Loggin 2009, Raj V.P.et al., 2010, Xiao-Wen Li et al., 2010, Bashandy S.A., AlWasel S.H., 2011, Alisi C.S.et al., 2011, Karwani G., Sisodia S.S., 2011,Sahreen S.et al., 2011, Ипатова О.М., 2005, Смольякова В.И. и др., 2010, Доркина Е.Г., 2010). Tetraclorura de carbon se poate supune uşor metabolizării sub acţiunea oxidazelor ce conţin flavoproteine (NADPH-P-450 reductaza, NADH-citocrom b5 reductaza, oxidazele citocromului P-450) prin dehalogenizare în membranele reticulului endoplasmatic (sediul iniţial), iar ulterior şi în membranele altor organele cu formarea în radicali liberi triclormetilen ($CCl_3^*$) şi $Cl^*$.(Tarantino G et al., 2009, Adeneye A.A.,2009, Kamel H.H.et al., 2010, Xiao-Wen Li et al., 2010, Kumarappan Ch.et al., 2011, Verma N.et al., 2011 ).

În studiile *in vitro* şi *in vivo* s-a demonstrat că $CCl_4$ micşora conţinutul citocromului P-450 în microsomele ficatului, ce relevă afectarea membranei reticulului endoplasmatic, precum şi creştea inactivarea acestuia. Acest efect este amplificat de fenobarbital şi confirmă potenţierea acţiunii hepatotoxice a $CCl_4$ (Ипатова О.М., 2005).

În procesul de metabolizare se obţine, de asemenea, cloroformul, rezultat al interacţiunii cu acizii graşi polinesaturaţi, precum şi hexacloretanul, un produs de dimerizare a $CCl_3^*$. Cloroformul este de asemenea produs în ficat la incubarea cu $CCl_4$ (Tarantino G.et al., 2009).

La cuplarea $CCl_3^*$ cu acizii graşi polinesaturaţi din lipidele membranare se formează cloroformul şi radicalii lipidici. Ultimii iniţiază o reacţie în lanţ a POL în interiorul şi partea externă a hepatocitelor cu inducerea afecţiunii hepatice. Din autooxidarea microzomială a cloroformului rezultă formarea fosgenului, un reactiv cu hepatotoxicitate marcată (Adeneye A.A., 2009).

Studiile experimentale au demonstrat că în activarea $CCl_4$ sunt implicate CYP 2E1, 1B1, 1B2, 3A4. Este necesar de menţionat că CYT P-450 poate oxida şi reduce $CCl_4$ în condiţiile presiunii parţiale reduse de $O_2$ în ţesuturi. Totodată s-a menţionat că fenobarbitalul, inductor al enzimelor CYT P-450, inclusiv a CYP 3A4, CYP 2C9, CYP 2E1, creşte toxicitatea $CCl_4$ (Kumarappan Ch.et al., 2011, Куценко С.А., 2002).

Un şir de autori denotă că $CCl_4$ reduce activitatea citocromului P-450, inclusiv a izoenzimelor CYP2E1, 2B, 3A4, 1A2, 2C11 etc. (Lee T.et al., 2003, Ibrahim Z.S.et al., 2008)

Un rol important în bioactivarea $CCl_4$ se atribuie izoenzimei CYP 2E1 (Bărăcan A., 2007, Aliman M.et al., 2010, Lima T.B.et al., 2010, Kumarappan C.et al., 2011, Tien Y.C.et al., 2011).

S-a stabilit că tetraclorura de carbon reacţionează cu grupele $NH_2$ ale aminelor şi proteinelor rezultând radicalul $CCl_3^*$, un rol important jucând CYP 2E1. Radicalul format prin reacţia de haloalchilare influenţează structura biomembranelor (Bărăcan A., 2007).

Radicalul triclormetil reacţionează de asemenea cu oxigenul cu formarea triclometilperoxidului ($CCl_3OO^*$), o specie foarte reactivă capabilă să atragă ionii de hidrogen de la acizii graşi polinesatiraţi cu iniţierea POL (Kamalakknnan N.et al., 2005) Radicalii liberi formaţi pot afecta hepatocitele prin 2 mecanisme: cuplarea covalentă cu aminoacizii, acizii graşi polinesaturaţi, proteinele, lipidele şi acizii nucleici; inducerea POL (CHamalakknnan N.et al., 2005, Sen A et al., 2007, Bashandy S.A., AlWasel S.H.,2011, Смольякова В.И. и др., 2010,).

**Inducerea stresului oxidativ şi peroxidării lipidelor**. În afecţiunile hepatice de diferită geneză un rol important îi revine stresului oxidativ, care creşte activitatea prooxidantă şi micşorează rezervele sistemului antioxidant. Acest dezechilibru este responsabil de dereglarea asigurării celulelor cu energie, reducerea capacităţii detoxicante, eliberarea citochinelor proinflamatoare şi activarea apoptozei. Concomitent stresul oxidativ iniţiază dereglările circulaţiei hepatice (afectarea endoteliului vascular şi sinusoidelor hepatice cu modificarea producerii NO, înrăutăţeşte proprietăţile reologice ale sângelui şi microcirculaţia) ceea ce aprofundează evoluţia proceselor patologice (Доркина Е.Г., 2010).

Stresul oxidativ este un mecanism al afecţiunii ficatului în hepatitele alcoolice, virale, toxice şi non-alcoolice. Acesta, sub formă de specii reactive ale oxigenului (SRO) şi ale azotului (SRN), poate afecta toate celulele ficatului, inclusiv hepatocitele, celulele Kupffer, celulele stelate şi celulele endoteliale ca urmare a inducţiei inflamaţiei, ischemiei, fibrozei, necrozei, apoptozei sau transformării maligne prin afectarea lipidelor, proteinelor şi/sau ADN-ului. Dacă nivelul produselor oxidate depăşeşte capacitatea normală a sistemului antioxidant survine stresul oxidativ cu dereglarea proceselor fiziologice: respiraţia oxidativă, creşterea, regenerarea, apoptoza şi protecţia microsomială (Medina J., Moreno-Otero R., 2005, Diesen D.L., Kuo P.C., 2010).

Acţiunea secundară nespecifică este determinată de inducerea stresului oxidativ şi POL, iar acestea sunt responsabile de dereglarea proprietăţilor de barieră ale membranelor, proceselor bioenergetice şi funcţiilor celulare, creşterea efluxului enzimelor hidrolitice, lizozomale şi survenirea dereglărilor morfologice (Login C., 2009, Akindele A.J.et al., 2010, Uzma N.et al., 2010, Cemek M.et al., 2010, Kamel H.H.et al., 2010, Alisi C.S.et al., 2011, Bashandy S.A., AlWasel S.H., 2011, Dombrovic R.et al., 2011, Lima de Medeiros B.J.et al., 2011, Quan J.et al., 2011, Sahreen S.et al., 2011, Tien Y.C.et al., 2011, Хотимченко М.Ю., Сопина Л.Н., 2006, Доркина Е.Г., 2010).

Radicalii liberi sunt capabili să accepte atomii de hidrogen, îndeosebi în grupele metilen ale acizilor graşi polinesaturaţi, cu iniţierea lipoperoxidării autocatalitice, şi să se cupleze cu proteinele şi lipidele. Ambele procese produc alterarea structurilor membranare ce duce, probabil, la dereglarea funcţiilor membranelor, inclusiv modificarea permeabilităţii şi pierderea integrităţii normale intracelulare şi activităţii. Nu este determinat care relevanţă este mai importantă în afectarea hepatocitelor - cuplarea covalentă cu proteinele sau inducerea POL.

În studii pe culturi de hepatocite s-a constatat că $CCl_4$ a generat producerea de radicali liberi deja peste 2 ore cu maximul la 4 ore şi o descreştere peste 6 ore. În acelaşi timp, activarea POL (creşterea produselor TABRS) se constată deja peste 0,5-1 oră până la 14 ore (Kamel H.H.et al., 2010).

Speciile reactive ale oxigenului – anionul superoxid ($O_2^{\bullet}$), peroxidul de hidrogen ($H_2O_2$) şi radicalul hidroxil ($OH^{\bullet}$) – sunt produse de mitocondrii. Superproducţia acestor radicali poate fi cauzată de diferite toxine, inclusiv $CCl_4$, cu dezvoltarea stresului oxidativ şi dezechilibrul celulelor prin producerea şi eliminarea speciilor reactive ale oxigenului (Kamel H.H.et al.,2010).

Triclormetilul şi triclormetilperoxidul se cuplează ireversibil de acizii graşi polinesaturaţi, în particular cu cei asociaţi cu fosfolipidele, şi iniţiază POL. Acest efect afectează permeabilitatea membranei citoplasmatice, mitocondriale şi reticulului endoplasmatic cu micşorarea sechestrării şi dereglării homeostazei calciului, ce poate contribui la lezarea subsecventă a celulei. Produsele de degradare a acizilor graşi polinesaturaţi sunt aldehide reactive, în special 4-hidroxinonenalul (4-HNE), care uşor se cuplează cu grupele funcţionale ale proteinelor şi inhibă activitatea unor enzime importante.

Tetraclorura de carbon la a 11-a zi determina majorarea în ficat a nivelului produselor primare şi secundare a POL: conjugaţilor dienici (CD), conjugaţilor trienici (CT) şi bazelor Shiff, precum şi a indicelui de oxidare (indică reducerea nivelului lipidelor neoxidate). Concomitent se constata o micşorare a tocoferolului (Смольякова В.И. и др., 2010). Autorii consideră că acţiunea prooxidantă a $CCl_4$ este determinată în primul rând de formarea radicalilor liberi ($CCl_3^{\bullet}$, $CCl_3OO^{\bullet}$), iar în al doilea rând de cuplarea acestora cu macromoleculele celulare (lipide, proteine, acizi nucleici). În acest caz, acumularea produselor POL şi dereglarea funcţiilor ficatului corelează cu diminuarea nivelului tocoferolilor.

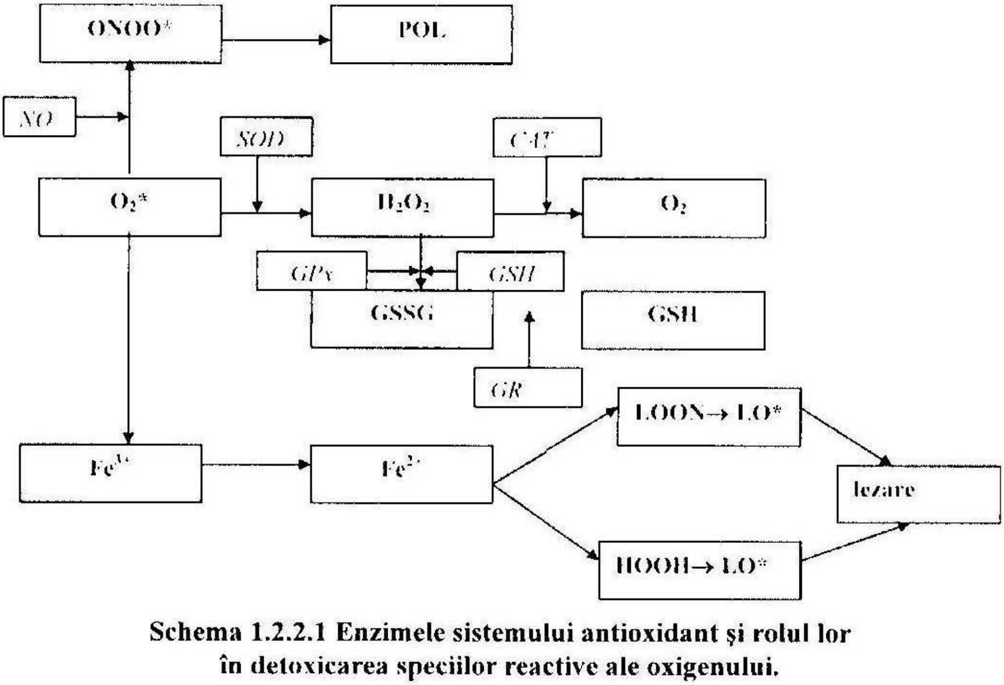
În afecţiunea hepatică indusă prin $CCl_4$ s-a constatat o majorare a nivelului substraturilor ce reacţionează cu acidul tiobarbituric (TABS), a conjugaţilor dienici, dialdehidei malonice cu o diminuare a activităţii superoxiddismutazei (SOD), catalazei, glutation peroxidazei (GPx), glutation-S-transferazei (GST), NADP-reductazei, activităţii antioxidante totale (AAT) şi conţinutului GSH (Sahreen S.et al., 2011, Tien Y.C.et al., 2011, Доркина Е.Г., 2010).

Tetraclorura de carbon induce stresul oxidativ şi POL cu majorarea conţinutului peroxidului de hidrogen ($H_2O_2$), care în hepatocite interacţionează cu lipidele şi generează radicalul hidroxil ($OH^{\bullet}$), foarte reactiv şi agresiv care iniţiază o cascadă de reacţii ce deteriorează lipidele membranare cu formarea radicalilor liberi endogeni care interacţionează cu proteinele şi ADN cu noi leziuni ale ficatului şi procese anormale (Sahreen S.et al., 2011).

S-a demonstrat că în afecţiunea ficatului prin $CCl_4$ creşte nivelul hidroperoxizilor în sânge şi DAM în ficat şi rinichi (Lima T.B.et al., 2010, Bashandy S.A., AlWasel S.H., 2011, Хотимченко М.Ю., Сонина Л.Н., 2006, Доркина Е.Г., 2010).

Stresul oxidativ induce utilizarea excesivă a GSH, tocoferolului şi acidului ascorbic cu micşorarea nivelului lor în ser şi ficat (Kamalakknnan N.et al., 2005). Un rol important se acordă reducerii nivelului GSH, care captează radicalii liberi şi reflectă starea sistemului antioxidant endogen (Kumarappan Ch.et al., 2011, Bashandy S.A., AlWasel S.H., 2011, Sahreen S.et al., 2011). S-a relatat că micşorarea nivelului GSH induce o susceptibilitate mai mare la stresul oxidativ, iar raportul GSH/GSSG demonstrează un dezechilibru oxidativ. Preparatele, ce restabilesc nivelul GSH şi raportul GSH/GSSG, se consideră că manifestă proprietăţi antioxidante (Jing-Ying Xu et al., 2010, Verma N.et al., 2011).

Un rol important în protecţia faţă de $CCl_4$ revine enzimelor antioxidante, care transformă moleculele active ale oxigenului în cele non-toxice (*schema 1.2.2.1*). Tetraclorura de carbon prin SRO şi peroxizii lipidici inactivează SOD, catalaza, GPx, GST, GR (Tien Y.C.et al., 2011, Sahreen S.et al., 2011, Verma N.et al., 2011). Glutation-S-transferaza, o proteină citosolică solubilă, este importantă în detoxificarea şi excreţia xenobioticelor şi îndeplineşte 2 funcţii: catalitică şi de cuplare. În afecţiunea ficatului indusă de $CCl_4$ este afectată funcţia catalitică, capacitatea de a asigura reacţia dintre GSH şi substraturilor electrofile cu detoxifierea lor. Glutation-reductaza este o enzimă implicată în diferite fenomene celulare, inclusiv răspunsul la generarea radicalilor liberi şi speciilor reactive ale oxigenului. Tetraclorura de carbon, prin reducerea activităţii GR, micşorează raportul GSH/GSSG contribuind astfel la dezvoltarea şi/sau progresarea leziunii hepatice (Verma N.et al., 2011).



**Schema 1.2.2.1 Enzimele sistemului antioxidant şi rolul lor în detoxicarea speciilor reactive ale oxigenului.**

Pentru aprecierea intensităţii stresului oxidativ unii autori recomandă a folosi indicele stresului oxidativ – raportul dintre POL/SAO. Acest indice determină o corelare strânsă cu cel de hepatoprotecţie după parametrii biochimici. Astfel, cu cât mai efectiv se restabileşte raportul POL/SAO cu atât mai marcată este hepatoprotecţia. În aceste cazuri este important nu numai inhibarea POL ci şi refacerea SAO, îndeosebi prin accentuarea mecanismelor endogene de protecţie antioxidantă pentru menţinerea indicelui respectiv în condiţiile stresului oxidativ (Доркина Е.Г., 2010).

Intensitatea stresului oxidativ se poate determina prin aprecierea nivelului proteinelor carbonilice. Grupele carbonilice (aldehide şi cetone) se consideră a fi rezultatul oxidării proteinelor în celulă, care în cazul acţiunii toxice a $CCl_4$ joacă un rol patogenetic, iar acumularea lor este un indicator al leziunilor hepatice (Kamel H.H.et al., 2010).

**Afectarea membranelor celulare.** Viabilitatea celulei depinde direct de structura membranei, iar afectarea ei poate fi detectată prin ieşirea enzimelor. Astfel, ieşirea LDH citosolice corelează bine cu viabilitatea celulelor. Tetraclorura de carbon a produs o pierdere a LDH, AsAT, AlAT în mediu după 14 ore. Pierderile de AsAT erau mai mari ca AlAT, în parte favorizate de fracţiile citosolice ale hepatocitelor. Această diferenţă poate fi cauzată de diferenţa de cuplare a enzimelor citosolice de organelele celulare şi de dimensiunile moleculelor enzimei. AsAT este prezentată în 2 izoenzime, una localizată în citoplasmă şi alta în mitocondrii. Prezenţa enzimelor în afara celulei denotă despre afectarea hepatocitelor (Kamel H.H.et al., 2010).

Triclormetilul şi triclormetilperoxidul se cuplează ireversibil cu macromoleculele celulare ceea ce contribuie la alterarea structurilor membranare şi permeabilităţii şi integrităţii lor, precum şi la perturbarea proceselor energetice şi reacţiilor celulare (Kumarappan Ch.et al., 2011). Ambii radicali ($CCl_3^*$ şi $CCl_3OO^*$) iniţiază peroxidarea acizilor graşi polinesaturaţi în reticulul endoplasmatic şi mitocondrii deja peste minute după administrarea $CCl_4$ (Aliman M.et al., 2010, Sahreen S.et al., 2011, Verma N.et al., 2011).

Afectarea membranelor celulare se atestă prin determinarea unor parametri biochimici, markeri citoplasmatici. Astfel, creşterea activităţii AsAT, AlAT, FAl, LDH, GGT şi bilirubinei remarcă lezarea membranei citoplasmatice cu ieşirea enzimelor respective din citoplasmă şi/sau mitocondrii (Lima T.B.et al., 2010, Sahreen S. et al., 2011, Verma N. et. al., 2011).

Tetraclorura de carbon a determinat o diminuare a fluidităţii membranelor hepatocitelor în urma inducerii stresului oxidativ şi POL cu intensificarea oxidării lipidelor şi proteinelor. Acestea din urmă s-au relevat prin majorarea nivelului DAM, 4 –hidroxialchenalilor şi proteinelor carbonilice în homogenatul ficatului (Aranda M. et alo., 2010).

**Dereglarea homeostazei calciului intracelular.** Tetraclorura de carbon îşi poate realiza parţial acţiunea citotoxică prin dereglarea homeostazei intracelulare a calciului. Nivelul calciului intracelular se menține prin: influxul calciului după gradientul concentrației; efluxul activ cu participarea Ca-ATP-azei (în hepatocite și eritrocite) și schimbului Na/Ca în celulele excitabile; sechestrarea calciului în organitele intracelulare (nucleu, mitocondrii, reticulul endoplasmatic) (Куценко С.А., 2002).

Mecanismele dereglării homeostazei intracelulare a calciului .se pot reduce la: afectarea membranelor biologice și creșterea permeabilității lor pentru ioni; dereglarea bioenergeticii celulare care duce la diminuarea conținutului macroergilor; modificarea stării funcționale a complexelor proteice (inclusiv prin influențarea receptorilor respectivi) ce formează canalele pentru calciu. Aceste mecanisme pot contribui la creșterea calciului intracelular prin intensificarea influxului și majorarea eliberării din organitele intracelulare. Tetraclorura de carbon poate crește nivelul calciului intracelular prin: intensificarea efluxului din reticulul endoplasmatic și majorarea influxului prin membrana citoplasmatică (Куценко С.А., 2002).

Tetraclorura de carbon prin intermediul calciului poate activa fosfolipazele, enzimele calmodulin-dependente, îndeosebi fosfolipazele A2. Acestea din urmă intensifică hidroliza fosfolipidelor membranare și afectează celulele, inclusiv hepatocitele. Efect similar se constată în hepatocite la acumularea lor în condiții de anoxie. Deci, $CCl_4$ prin majorarea calciului intensifică activitatea fosfolipazelor cu creșterea rulajului fosfolipidelor și moartea hepatocitelor (Куценко С.А., 2002).

Majorarea calciului intracelular duce la activarea proteinelor calciu-dependente (ATP-aze etc.), localizate extralizozomal, în structurile membranare, ceea ce duce la afectarea membranelor celulare, distrucția receptorilor proteici, activarea unor enzime ce participă la mitoză. Aceste procese pot fi responsabile de moartea hepatocitelor. Prin dereglarea homeostazei intracelulare a calciului se pot activa endonucleazele ce pot cauza necroza hepatocitelor (Куценко С.А., 2002).

**Diminuarea metabolismului energetic și proceselor metabolice.** Tetraclorura de carbon produce o stare de hipoxie cu creșterea glicolizei anaerobe și dereglarea producerii aerobe a energiei la nivelul mitocondriilor relevată prin majorarea raportului lactat/piruvat, reducerea nivelului glucozei și glicogenului în ficat, diminuarea activității succinat dehidrogenazei (SDH), citocrom C oxidazei (CCO) și creșterea Mg-ATP-azei. Concomitent s-a constatat inhibarea oxidării microzomiale manifestată prin reducerea activității sistemului NADPH - N-demetilazei, N-hidroxilazei și neotetrasolii reductazei (Ипатова О.М., 2005, Доркина Е.Г., 2010).

Intensificarea POL cu alterarea structurilor reticulului endoplasmatic și altor membrane celulare, precum și diminuarea activității enzimelor metabolice este responsabilă de dezvoltarea afecțiunii hepatice (Kumarappan C.et al., 2011, Verma N.et al., 2011). Creșterea duratei somnului barbituric relevă despre micșorarea activității enzimelor implicate în metabolizarea fenobarbitalului (Kumarappan C.et al., 2011).

În studii experimentale s-a demonstrat că $CCl_4$ inhibă sinteza proteinelor înaintea detectării afectărilor ficatului. Sinteza proteinelor este un eveniment citoplasmatic limitat de transportarea ARNm din nucleu în citoplasmă, proces determinat de activitatea nucleotid trifosfatazei (NTP). Tetraclorura de carbon inhibă această enzimă cu diminuarea transportului ARNm şi micşorarea sintezei proteinelor, în particular a albuminelor şi fibrinogenelui. Microscopia electronică a arătat o dislocare precoce şi frecventă a particulelor ribonucleoproteice din membrana reticulului endoplasmatic deja peste 3 ore de la introducerea $CCl_4$ (Xiao-Wen Li et al., 2010). Autorii menţionează că inhibarea sintezei precoce a proteinelor este un eveniment cheie ce determină supravețuirea hepatocitelor şi metabolismul celular.

În ficat, la acţiunea $CCl_4$ se determină o creştere a conţinutului trigliceridelor şi colesterolului, reducere a proteinelor şi coeficientului de conjugare a bilirubinei (Саратиков А.С.и др., 2008, Чучалин В.С.и др., 2010).

Intoxicaţia acută cu $CCl_4$ se soldează cu modificări ale: echilibrului hormonal şi al mediatorilor (11-oxichetosteroizilor, catecolaminelor, aminelor biogene); metabolismului energetic (creşterea ADP, reducerea ATP şi creatininfosfatului); proceselor de oxido-reducere (micşorarea activităţii SDH, citocromoxifazei); metabolismului glucidic (hipoglicemie şi diminuarea glicogenului în ficat); proceselor sintetice (micşorarea proteinelor totale, albuminelor, coeficientului albumine/globuline, colesterolului) (Рыжкина А.В. и др., 2006). Autorii consideră că micşorarea activităţii enzimelor respiratoare (SDH, citocromoxidazei) relevă despre dezvoltarea hipoxiei tisulare acute cu diminuarea proceselor de oxido-reducere. Se constată, de asemenea, reducerea enzimelor hidrolitice hepatice (esteraze nespecifice, fosfataza acidă şi alcalină) şi dereglări ale microcirculaţiei cu hipoxie, acidoză şi deficit energetic.

Tetraclorura de carbon a contribuit la micşorarea marcată a sintezei ARN, preponderent ARNm, ce poate fi determinată de dereglarea transcripţiei şi/sau activarea nucleazelor (Ипатова О.М., 2005). Concomitent $CCl_4$ reduce sinteza ADN-ului în nucleu şi, îndeosebi, în mitocondrii, fapt ce relevă că dereglarea funcţiilor mitocondriilor este cauzată de activitatea metabolică a hepatotoxicului nemijlocit în aceste organele. S-a stabilit că cuplarea covalentă a $CCl_4$, dar îndeosebi a radicalilor liberi, cu ADN-ul mitocondrial e de zeci de ori mai mare decât cu ADN-ul nuclear. Concomitent sinteza ADN-ului mitocondrial este mai sensibilă la acţiunea lezantă a hepatotoxicului, decât cea a ADN-ului nuclear (Ипатова О.М., 2005).

Acţiunea hepatotoxică a $CCl_4$ se soldează cu afectarea fosfatazelor, enzime cheie responsabile de diferite funcţii biologice precum metabolism, detoxifierea şi biosinteza macromoleculelor energetice (Sahreen S.et al., 2011).

**Inducerea proceselor inflamatoare şi fibrotice.** Dezvoltarea proceselor inflamatoare şi fibrotice este determinată în mare parte de migrarea celulelor polimorfonucleare şi activitatea celulelor Kupffer şi stelate. Hepatocitele necrotizate provoacă un influx al leucocitelor în aria necrotică, care produc citochine ce cauzează proliferarea hepatocitelor viabile existente, precum şi transformarea celulelor stelate în miofibroblaşti cu stimulează procesele reparatoare. Celulele Kupffer, sursă de citochine, influenţează lezarea/regenerarea ficatului în afecţiunea indusă de $CCl_4$. Astfel, distrucţia acestor celule a atenuat semnificativ afectarea ficatului. Celulele stelate sau perisinusoidale, localizate în spaţiile Disse, în normă sunt un depou pentru vitamina A şi grăsimi, iar la acţiunea $CCl_4$ se transformă în miofibroblaşti ce produc colagen. Aceste celule au fost identificate ca sursă primară a matricii proteice în repararea hepatocitelor şi fibrogeneză. Leucocitele mediază proliferarea şi transformarea celulelor stelate de a produce citochine. Creşterea producerii IL-6 şi TGF-beta corelează direct cu transformarea celulelor stelate şi acumularea matricii proteice ca răspuns la $CCl_4$. Astfel, prin micşorarea infiltrării cu leucocite şi reglarea expresiei IL-6 se micşorează procesele reparative (Aliman M.et al.; 2010).

Tetraclorura de carbon produce modificări patologice relevate prin acumularea colagenului şi glicozaminoglicanilor în vasele hepatice de diferit diametru (Рыжкина А.В. и др., 2006).

Tetraclorura de carbon creşte brusc numărul celulelor Kupffer, capabile să producă un şir de substanţe biologic active, inclusiv TNFalfa (Ипатова О.М., 2005).

Hotimcenco M.Iu şi Sonina L.N (2006) consideră că radicalii liberi, produşi de $CCl_4$, sunt responsabili de dezvoltarea proceselor inflamatoare.

Supraproducţia de radicali liberi poate direct afecta membrana celulară prin inducerea POL sau alte mecanisme, precum eliberarea masivă a mediatorilor inflamaţiei sau a citochinelor, responsabile ulterior de lezarea ficatului (Kamel H.H. et al., 2010).

Tetraclorura de carbon a indus o reacţie inflamatoare prin creşterea citochinelor proinflamatoare (IL-1beta, INFgama) şi chemochinelor (MCP-1, MIP-2beta, KC), precum şi o infiltraţie leucocitară (Oh P.S.et al., 2010, Shim J.Y.et al., 2010). De asemenea un şir de autori au remarcat că $CCl_4$ provoacă un proces inflamator prin inducţia ciclooxigenazei-2 (COX-2), nitroxid sintetazei inductibile (NOSi) şi mieloperoxidazei pe fundalul dezvoltării stresului oxidativ (Hsu C.C.et al., 2009, Domitrovic R.et al., 2011, Quan J.et al., 2011)

**Markerii afecţiunii hepatice induse de tetraclorura de carbon.** Hepatotoxicitatea tetraclorurii de carbon, determinată de mecanismele descrise, se manifestă prin dezvoltarea sindromului de citoliză (creşterea activităţii AlAT, AsAT, coeficientului AsAT/AlAT, creatininfosfochinazei (KP), lactatdehidrogenazei (LDH) etc.), de colestază (majorarea activităţii FAl, GGTP şi nivelului bilirubinei totale şi fracţiilor lui, îndeosebi celei indirecte), de inflamaţie mezenchimală (disproteinemie cu creşterea fracţiei globulinelor şi probei timol), de distrofie lipidică (majorarea trigliceridelor şi micşorarea fosfolipidelor în ficat) şi de insuficienţă hepatocelulară (reducerea conţinutului proteinelor totale şi indicelui albumine/globuline, ureei, reducerea activităţii colinesterazei, majorarea nivelului bilirubinei directe) (Kamel H.H., 2010, Alisi C.S.et al., 2011, Bashandy S.A., AlWasel S.H., 2011, Raj V.P.et al., 2010, Sahreen S.et al., 2011, Tien Y.C.et al., 2011, Verma N.et al., 2011, Саратиков А.С.и др., 2008, Доркина Е.Г., 2010).

Studiile histologice au relevat dereglarea structurii (arhitectonicii) lobilor, distrofia hidroptică (vacuole în citoplasmă), distrofia lipidică, hialinică şi proteică (steatoză), dereglări ale microcirculaţiei (stază, agregarea elementelor figurate), afectarea endoteliului sinusoidelor, semne de inflamaţie (infiltrarea cu limfocite şi mononucleare, edemul), fragmentarea difuză şi carioliza nucleului cu focare de necroză centrolobulară, depunerea de colagen şi licozaminoglicanelor în vase (*fig.1.2.2.1*) (Adeneye A.A., 2009, Ismail R.S.A.et al., 2009, Asif Mir et al., 2010, Jing-Ying Xu et al., 2010, Karwani G., Sisodia S.S., 2011, Verma N.et al., 2011, Саратиков А.С.и др., 2008, Чучалин В.С.и др., 2010, Рыжкина А.В. и др., 2006, Доркина Е.Г., 2010).

Cercetările histologice şi histochimice ale ficatului animalelor cu hepatită toxică acută prin $CCl_4$ au arătat la a 4-a zi: cromatoliza centrală în nucleele hepatocitelor până la carioliză; micşorarea conţinutului de ADN; diminuarea nivelului ARN-ului şi fosfolipidelor structurale; distrofia lipidică şi proteică; intensificarea proliferării fibroblaştilor; necroza hepatocitelor şi dezvoltarea în locul lor a ţesutului granular; micşorarea indicelui mitotic şi poliploidiei hepatocitelor (Ипатова О.М., 2005).

Unii autori menţionează că dereglările histologice provocate de $CCl_4$ sunt similare cu cele constatate în infecţie virală (Raj V.P. et al., 2010, Karwani G., Sisodia S.S., 2011, Хотимченко М.Ю., Сонина Л.Н., 2006).

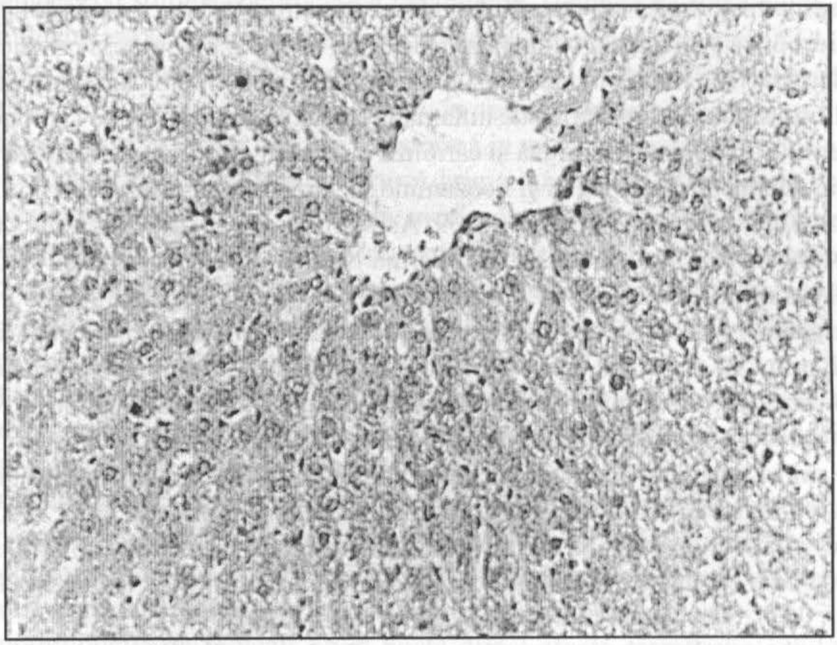
Tetraclorura de carbon poate provoca leziuni centrolobulare printr-o necroză acută, precum şi prin intensificarea apoptozei. Necroza hepatocitelor poate fi cauzată de: metaboliţii activi cu polaritate înaltă; cuplarea metaboliţilor, care posedă acţiune alchilantă sau acetilatoare, cu moleculele hepatice; micşorarea detoxicării intracelulare, inclusiv reducerea nivelului glutationului; dezvoltarea unor mecanisme idiosincrazice dependente de diferenţe în activitatea enzimelor de metabolizare şi defecte ale sistemului imun (Allman M.et al., 2010, Tien Y.C. et al., 2011, Куценко С.А., 2002).

Studiile experimentale pe şoricei au demonstrat că dieta bogată în acizi graşi saturaţi creşte acţiunea hepatotoxică a $CCl_4$ cu o diminuare a proceselor regeneratoare (*fig.1.2.2.2*) (Allman M.et al., 2010).

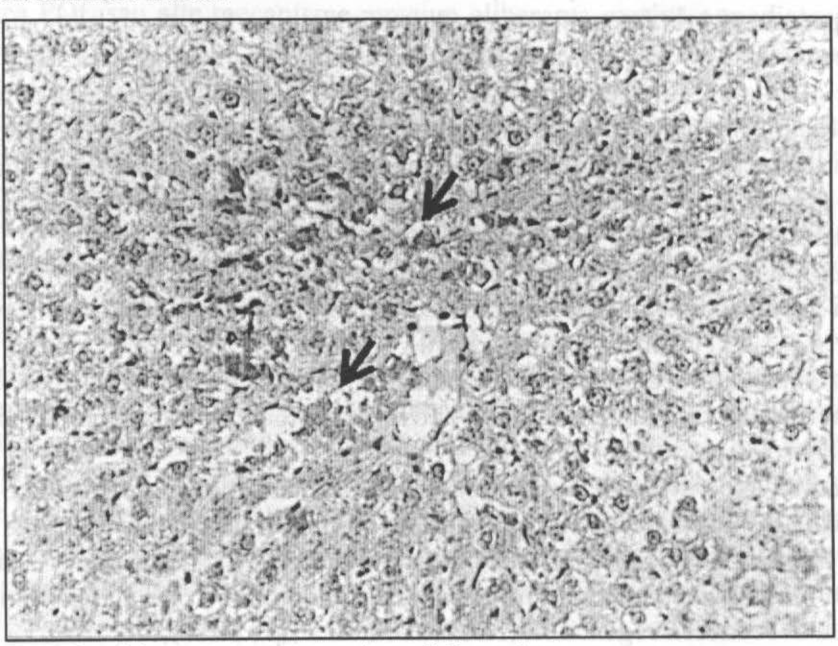
S-a constatat că $CCl_4$ induce apoptoza prin disfuncţia mitocondriilor, eliberarea citocromului C, endonucleazei G, activarea proteinelor proapoptotice şi caspazelor (Tien Y.C.et al., 2011).

Studiile experimentale au demonstrat că $CCl_4$ la şobolani determina o creştere marcată a indicelui necrotic şi apoptotic cu micşorarea celui mitotic şi vitezei de proliferare a hepatocitelor. Astfel, hepatotoxicitatea $CCl_4$ se caracterizează prin moartea masivă a hepatocitelor prin necroză şi apoptoză cu prevalarea primului tip pe fundalul reducerii regenerării (Козлова М.А. и др., 2011).

Apoptoza caracterizează modificări morfologice precum vacuolizarea, condensarea şi fragmentarea nucleului. Aceste modificări sunt rezultatul unei cascade de perturbări biochimice în celule, activării caspazelor şi fragmentării ADN-ului. Apoptoza reprezintă un mecanism de moarte a celulelor şi joacă un rol crucial în *hepatotoxicitatea* $CCl_4$ *(Kamel H.H.et al., 2010).*



**A. Animale intacte**



**B. Animalele tratate cu tetraclorură de carbon**

**Fig. 1.2.2.1** (Ismail R.S.A.et aş., 2009) **A. La animalele intacte se atestă structura normală a ficanului. B. La administrarea $CCl_4$ se determină vacuolizarea hepatocitelor, hemoragie, necroză, fibroplazia portală asociată cu colangită (H and E x 200).**

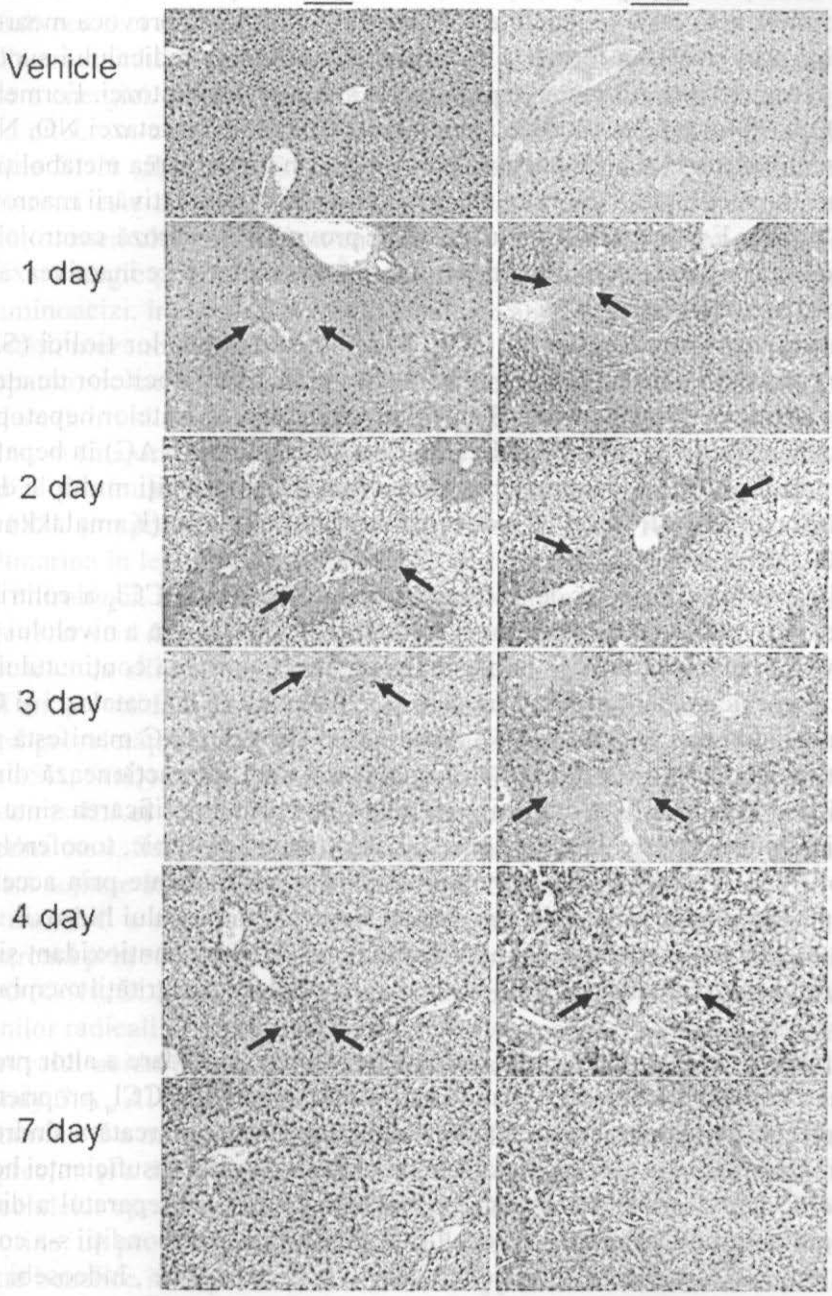


**Fig. 1.2.2.2** (după Allman M.et al., 2010) **Hepatoxicitatea indusă de $CCl_4$ la şoricei ce urmau dieta standard (CD) şi dieta bogată în acizi graşi saturaţi (WD). Tetraclorura de carbon a provocat în ambele grupe o necroză centrolobulară cu un maxim la 1-3 zi. La animalele cu CD s-au iniţiat procesele regeneratoare, evidente la a 7-a zi. În acelaşi timp, la şoriceii cu WD acestea erau minime.**

Un rol important îl pot juca și un șir de factori nespecifici ca oxidul de azot (NO), formele active ale oxigenului ($O_2$). Astfel, $CCl_4$ poate provoca moartea hepatocitelor prin creșterea formării NO, care, sub influența radicalului superoxid, trece în peroxinitrit cu nitrozilarea proteinelor și inițierea apoptozei. Formele active ale $O_2$ pot fi un produs catalitic al ciclului CYT P-450, sintetazei NO, NADH-reductazei, diaforazei și altor enzime, precum și prin participarea metaboliților intermidiari în reacțiile transportului electronilor de la $O_2$ sau activării macrofagilor de xenobiotice. Este cunoscut faptul că $CCl_4$ provoacă o necroză centrolobulară, zonă unde se constată cea mai înaltă activitate a enzimelor care inactivează xenobioticele (Куценко С.А., 2002).

**Tratamentul intoxicației cu $CCl_4$.** Modularea compușilor tiolici (SH) celulari se consideră o direcție patogenică de protecție a hepatocitelor de atacurile speciilor reactive ale oxigenului (SRO) și de studiu a preparatelor hepatoprotectoare. Cu acest scop se inițiază utilizarea N-acetilcisteinei (NAC) în hepatotoxicitatea indusă prin $CCl_4$ deoarece preparatul posedă proprietăți multiple datorită interferării cu radicalii liberi în inducerea stresului oxidativ (Kamalakknnan N. et al., 2005,).

Utilizarea NAC în doza de 150 mg/kg în intoxicația cu $CCl_4$ a contribuit la reducerea activității transaminazelor și fosfatazei alcaline în ser, a nivelului produselor TABS și hidroperoxizilor în plasmă și ficat cu majorarea conținutului GSH, acidului ascorbic și tocoferolului, precum și a activității SOD, catalazei și GPx în ficat (Kamalakknnan N.et al., 2005). Autorii consideră că NAC manifestă proprietăți antioxidante datorită: prezenței grupelor SH care interacționează direct cu radicalii liberi electrofili; restabilirii nivelului GSH prin amplificarea sintezei lui; refacerii nivelului antioxidanților nonenzimatici (acidul acsorbic, tocoferolul), inclusiv prin GSH; normalizării activității enzimelor antioxidante prin accelerarea consumului anionului superoxid, oxigenului singlet și radicalului hidroxil. Astfel, hepatoprotecția realizată de NAC este determinată de efectul antioxidant și membranostabilizator (captarea radicalilor liberi și menținerea integrității membranelor celulare).

Silimarina, un hepatoprotector etalon în studiile de elucidare a altor preparate cu acțiune hepatoprotectoare, a manifestat în intoxicațiile cu $CCl_4$ proprietăți benefice relevate prin supraviețuirea animalelor, ameliorarea marcată a sindromului de citoliză și inflamație mezenchimală, anihilarea moderată a insuficienței hepatice (de sinteză, detoxicare și metabolică) și stresului oxidativ. Preparatul a diminuat coeficientul stresului oxidativ – raportul POL/SAO. În aceste condiții s-a constatat că silimarina nu restabilea deplin activitatea verigii enzimatice , îndeosebi a enzimelor primei linii de protecție (GST, SOD, GPx), precum și a enzimelor ce asigură echivalența reductorilor pentru activitatea GPx și GST, din care cauză nu s-a normalizat activitatea totală a NADP-reductazei (Доркина Е.Г., 2010).

Mai mulți autori au remarcat proprietățile antioxidante ale silimarinei (doze de 25-200 mg/kg) prin restabilirea activității enzimelor antioxidante (SOD, catalaza, GPx, GST, GR) şi nivelului GSH (Lima T.B.,et al., 2010, Lima de Nedeiros et al., 2011, Sahreen S.et al., 2011, Tien Y.C.et al., 2011.).

Silimarina inhibă procesele anaerobe şi le ameliorează pe cele aerobe de formare a energiei. Astfel, preparatul micşora raportul lactat/piruvat, creştea activitatea citocrom-c reductazei şi nivelul ATP-ului, dar nu influenţa semnificativ activitatea SDH (Доркина Е.Г., 2010). Autoarea consideră că efectul protector al silimarinei este determinat de restabilirea raportului POL/SAO prin creşterea eficacităţii sistemului antioxidant endogen şi a proceselor determinate de el – asigurarea cu energie şi detoxicarea. În acelaşi timp extractul din *Vicia*, ce conţine un şir de aminoacizi, îndeosebi esenţiali, a indus o ameliorare a parametrilor proteici şi activităţii mezenchimale.

Hepatotoxicitatea $CCl_4$ a fost ameliorată de silimarină prin păstrarea integrităţii celulare (normalizarea activităţii AlAT, AsAT, GGT şi LDH), restabilirea funcţiei de sinteză (majorarea nivelului proteinelor totale şi albuminelor) şi corecţia dislipidemiei (diminuarea nivelului trigliceridelor, colesterolului total şi LDL, normalizarea HDL şi raportului LDL/HDL) (Raj V.P.et al., 2010, Alisi C.S.et al., 2011).

Silimarina în leziunea ficatului prin $CCl_4$ a diminuat activitatea FAl şi a redus nivelul bilirubinei, indici ce manifestă despre lezarea căilor biliare cu hiperbilirubinemie (Karwani G., sosidia S.S., 2011).

Eficacitatea silimarinei în afecţiunea hepatică indusă prin $CCl_4$ se datorează acţiunii antiperoxidice ca urmare a incorporării ei în membrana celulară cu modificarea proprietăţilor fizico-chimice, precum şi protejării antioxidanţilor fiziologici (GSH, SOD) cu micşorarea depleţiei GSH şi păstrarea funcţiilor lor (Lima de Medeiros B.J.et al., 2011). Autorii au demonstrat că antocianidele, flavonoizii (cvercetina etc.), flavonii, taninele şi fitosterolii, ce se conţin în mai multe plante, manifestă acţiune antiradicalică şi cresc metabolismul energetic.

Vitamina C a manifestat efecte protectoare faţă de acţiunea hepatotoxică a $CCl_4$ marcată prin reducerea POL (DAM, hidroperoxizilor în ser şi ficat) şi creşterea SAO (GSH, SOD, catalazei). În acest caz acidul ascorbic, posibil, prin donarea electronilor radicalilor liberi micşorează reactivitatea lor. Preparatul, de asemenea, creşte nivelul acidului uric în plasmă, un antioxidant ce captează radicalii liberi (Bashandy S.A., AlWesal S.H. 2011).

Vitamina C a micşorat pierderile de LDH fără a le influenţa pe cele ale AsAT, AlAT, precum şi a diminuat nivelul proteinelor carbonilice, dar nu a modificat procentul celulelor apoptotice (Kamel H.H.et al., 2010).

Taurina, un produs tiolic capabil să capteze efectiv radicalii liberi, a manifestat efecte benefice în hepatotoxicitatea cu $CCl_4$ prin diminuarea nivelului DAM în ficat, un indicator cert al POL (Xiao-Wen Li et al., 2010).

Maxarul, un complex polifenolic vegetal, a manifestat efecte pozitive în afecţiunea hepatică indusă prin $CCl_4$ relevată prin ameliorarea sindromului de citoliză, colestază şi perturbărilor metabolice (hipertrigliceridemia, hipoproteinemia, reducerea proceselor de conjugare) (Саратиков А.С.и др., 2008, Чучалин В.С.и др., 2010).

Tiofanul, un derivat sintetic al fenolilor, în afecţiunea hepatică indusă prin $CCl_4$ a manifestat proprietăţi antioxidante relevate prin inhibarea POL (reducerea nivelului CD, CT şi bazelor Shiff) datorită interacţiunii cu radicalii peroxidici şi scindării peroxizilor (Смольякова В.И. и др., 2010). Concomitent autorii au menţionat o intensificare a citocromului P-450 şi în primul rând a CYP 1A1 ce participă la formarea 7-hidroxipregnenanolului, necesar pentru protecţia imună a organismului.

Râjkina A.V. şi coaut. (2006), pentru diminuarea activităţii proceselor distructive, ameliorarea proceselor metabolice au utilizat în tratamentul afecţiunii hepatice induse de $CCl_4$ preparate cu diferite mecanisme de acţiune: antioxidanţi, stimulatoarele regenerării hepatice şi hepatoprotectoarele (ce vor ameliora procesele oxidative în mitocondrii, vor micşora permeabilitatea membranelor). Utilizarea cu o oră înainte de $CCl_4$, apoi şi timp de 2 săptămâni, a hepatoprotectoarelor cu diferit mecanism de acţiune a demonstrat: efect hepatoprotector mai marcat au hepabene, espaliponul, ursosanul, fosfoglivul; hepatoprotectoarele au influenţat cu preponderenţă anumite dereglări ( espaliponul – normaliza conţinutul glicogenului în ficat; hepabene – ameliora parametrii metabolismului proteic; fosfoglivul – restabilea homeostaza tisulară şi vasculară; ursosanul – normaliza metabolismul lipidic, procesele de eliminare a bilei, micşora afectarea toxică a hepatocitelor (Рыжкина А.В. и др., 2006).

Vitamina E în cultura de hepatocite a manifestat efect protector faţă de acţiunea hepatotoxică a $CCl_4$ prin creşterea stabilităţii membranare şi micşorarea ieşirii enzimelor citoplasmatice, diminuarea oxidării proteinelor şi procentului celulelor apoptotice. Tocoferolul, deşi nu s-a constatat o captare directă a radicalilor $CCl_4$, a redus apoptoza, mecanismul principal al morţii hepatocitelor, indus de hepatotoxic (Kamel H.H.et al., 2010).

Tratamentul hepatotoxicităţii induse de $CCl_4$ necesită o terapie patogenetică prin preîntâmpinarea sau diminuarea formării metaboliţilor activi, influenţarea asupra stresului oxidativ cu refacerea sistemului antioxidant (preparate cu proprietăţi antioxidante), creşterea potenţialului energetic al hepatocitelor, ameliorarea proceselor metabolice ce vor contribui la stabilizarea membranelor celulare.

## BIBLIOGRAFIE

1. Adeneye A.A. Protective Activity of the Stem Bark Aqueous Extract of Musanga Cecropoides in Carbon tetrachloride and Acetaminophen-induced Acute Hepatotoxicity in Rats. Afr.J.Tradit.Complement Altern.Med. 2009. 5 (2), p. 131-138.
2. Allman M., Gaskin L., Rivera C.A. $CCl_4$-induced hepatic injury in mice fed western diet is associated with blunted healing. J.Gastroenterol. Hepatol. 2010. March. 25 (3), p. 635-643.
3. Alisi C.S., Ojiaco A.O., Onyeze G.O.C. Normalisation of Lipoprotein Phenotypes by Chromolaena Odorata-Linn in carbon Tetrachloride Hepatotoxicity-Induced Dyslipidemia. Am..of Drug Discovery and development. 2011. p. 1-11.

4. Al-Sowyan N.S. Efficacy and Safety of Folic Acid During Toxic hepatitis Induced by Acute Overdose of Paracetamol. International Journal of Pharmacology. 2009. 5 (3), p. 208-214.
5. Andringa K.K.et al. Mitochondrial Protein Thiol Modification in Acetaminophen Hepatotoxicity: Effect on HMG-CoA Synthese. Toxicol.Lett. 2008 April 1; 177(3); 188-197.
6. Aranda M., Albendea C.D., Lostale F.et al., In vivo hepatic oxidative stress because of carbon tetrachloride toxicity: protection by melatonin and pinoline. J.Pineal.res. 2010.Aug. 49 (1), p. 78-85.
7. Asif Mir1. et al., Carbon Tetrachloride (CCl4) - induced hepatotoxicity in rats: Curative role of *Solanum nigrum*. Journal of Medicinal Plants Research 2010. December. 4(23), p. 2525-2532.
8. Au JS., Navarro VJ., Rossi S. Drug-induced liver injury - its pathophysiology and evolving diagnostic tools. Aliment Pharmacol Ther. 2011 Jul; 34(1):11-20.
9. Bashandy S.A., Al Wasel S.H. Carbon Tetrachloride-induced Hepatotoxicity and nephrotoxicity in Rats: Protective Role of Vitamin C. J.Pharmacol.Toxicol. 2011. p.1-10.
10. Bărăcan A. Implicaţiile sistemului L-arginină-oxid nitric în patogeneza dezechilibrelor metabolice din reacţia postagresivă toxică indusă de tetraclorura de carbon. Clujul Medical. 2007. v. LXXX. p. 394-397.
11. Chen C. et al. Serum Metabolomics Reveals Irreversible Inhibition of Fatty Acid β-oxidation through the Suppression of PPARα Activation as a Contributing Mechanism of Acetaminophen-induced Hepatotoxicity Chem Res Toxicol. 2009 April; 22(4): 699–707.
12. Cosgrove B.D. et al. Cytokine-Associated Drug Toxicity in Human Hepatocytes Is Associated with Signaling Network Dysregulation. Mol Biosyst. 2010. July 15; 6(7), p. 1195–1206.
13. Daly F.F., Fountain J.S., Murray L. Guidelines for the management of paracetamol poisoning in Australia and New Zealand--explanation and elaboration. A consensus statement from clinical toxicologists consulting to the Australasian poisons information centres. Med J Aust. 2008 Mar 3;188(5):296-301.
14. David S., Hamilton J.P. Drug-induced Liver Injury. US Gastroenterology and Hepatology Review. 2010. nr. 6 p. 73 - 80.
15. Diesen D.L., Kuo P.C. Nitric oxide and redox regulation in the liver: PartI. General consideration and redox biology in hepatitis. J.Surg.Res. 2010. Jul. 162 (1), p. 95-109.
16. Domitrovic R., Jakovac H., Blagojevic G. Hepatoprotective activity of berberine in mediated by inhibition of TNF-alfa, COX-2, and iNOS expression in CCl(4)-intoxicated mice. Toxicology. 2011. Feb. 4. 280 (1-2). p. 33-43.
17. Dumbrava V-T., Lupaşco Iu., Mazur M., Ţurcanu A. Ficatul şi medicamentele (îndrumar didactic). Chişinău, 2004, 91 p.
18. Dumbrava V-T. şi alţii. Bazele hepatologiei. Chişinău. 2010, v.II. 416 p.
19. Forte J.S. Paracetamol: safety versus toxicity. B.Pharm. (Hons.). 2002. nr.6. summer. p. 12-17.
20. Grattagliano I. et al. Biochemical mechanisms in drug-induced liver injury: Certainties and doubts. World J Gastroenterol. 2009 October 21; 15(39): 4865–4876
21. Hassan H. A., EL-Gendy A. M. Evaluation of silymarin and / or ginger effect on

induced hepatotoxicity by carbon tetrachloride in male albino rats. The Egyptian Journal of Hospital Medicine 2003. v.12, p. 101 – 112

22. Heard K. et al. A randomized trial to determine the change in alanine aminotransferase during 10 days of paracetamol (acetaminophen) administration in subhects who consume moderate amounts of alcohol. Aliment. Pharmacol. Ther. 2007. Jul. 15; 26 (2), p. 283-290.
23. Hinson J.A., Roberts D.W., James L.P. Mechanisms of Acetaminophen-Induced Liver Necrosis. Handb. Exp. Pkamacol. 2010 (196). p. 369-405.
24. Ji-Young Hong et al. Oxidant stress-induced liver injury in vivo: role of apoptosis, oncotic necrosis, and c-Jun $NH_2$-terminal kinase activation. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 2009 March; 296(3):G572-G581.
25. Jing-Ying Xu et al., Protective effects of fullerenol on carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats. Carbon. 2010. 48, p. 1388-1396.
26. Jones D.P. et al. Mechanisms of pathogenesis in drug hepatotoxicity putting the stres son mitochondria. Mol.Intery. 2010. Apr. 10 (2), p. 98-111.
27. Ismail R.S.F., El-Megeid A. A. A., Abdel-Moemin A.R. Carbon tetrachloride-induced liver disease in rats: the potential effect of supplement oils with vitamins E and C on the nutritional status. Ger Med Sci. 2009; 7: Doc05.
28. Kamel H.H. et al., Journal of American Science. 2010. 6(10), p. 992-1003.
29. Kamalakkannan N., Rukkumani R., Aruna K. Protective Effect of N-Acetyl Cysteine in Carbon tetrachloride Hepatotoxicity in Rats. Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics. 2005. 4, p.118-123.
30. Kamarappan Ch. et al., Protective and curative effects of polyphenolic extracts from Ichnocarpus frutescense leaves on experimental hepatotoxicity by carbon tetrachloride and tamoxifen. Annals of Hepatology. 2011.Jan-March.. 10 (1), p. 63-72.
31. Karwani G., Sisodia S.S. Hepatoprotective activity of Mimosa pudica linn. In carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rats. Journal of Herbal Medicine and Toxicology. 2011. 5 (1), p. 27-32.
32. Kozer E. et al. Glutathione, glutathione-dependent enzymes and antioxidant status in erythrocytes from children treated with high-dose paracetamol. Br.J.Clin.Pharmacol. 2003 March. 55 (3), p. 234-240.
33. Kshirsagar A. et al. The Internet Journal of Pharmacology. 2009. v. 7, N.1.
34. Lima T.B. et al., Hepatoprotective activity of LIV-first against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in albino rats. International Journal of green Pharmacy. 2010. April-June. p.71-74.
35. Lima de Mederios B.J. et al., Pharmacognosy res. 2011. Apr-Jun. 3 (2), p.79-84.
36. Masson M.J. et al., Patogenetic Role of NKT and NK Cells in Acetaminophen-Induced Liver Injury is Dependent on the Presence of DMSO. Hepatology. 2008. September. 48 (3).p.889-897.
37. Medina J., Moreno-Otero R. Pathophysiological basis for antioxidant therapy in chronic liver disease. Drugs. 2005. 65 (17), p. 2445-2461.
38. Morishima C. et al. Sylimarin inhibits in vitro T cell proliferation and cytokine production in hepatitis C virus infection. Gastroenterology. 2010, feb., 38 (2). p. 671-81.
39. Muriel P. Role of free radicals in liver diseases. Hepatol. Int. 2009. December. 3 (4), p.526-536.

40. Oh P.S., Lee J., Lim K.T. Inhibitory effect of MIL glycoprotein on expression of pro-inflamatory mediators in carbon tetrachloride-induced mice liver damage. J.Appl.Toxicol. 2010. Nov. 30 (8), p. 754-760.
41. Quan J., Yin X., Xu H. Boschniakia rossica prevent the carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity în rat. Exp.Toxicol.Pathol. 2011. Jan. 63 (1-2), p. 53-59.
42. Posadas I. et al., Acetaminophen Induces Apoptosis in rat Cortical Neurons. Plos. One. 2010. 5 (12). p. 153-160.
43. Raj V.P. et al., In vitro and in vivo hepatoprotestive effects of the total alchaloid fraction of Hygrophila auriculata leaves. Ind. J.Pharmacol. 2010. April. 42 (2), p. 99-104.
44. Roth R.A., Ganey P.A. Intrinsic versus Idiosyncratic Drug-Induced Hepatotoxicity—Two Villains or One? J Pharmacol Exp Ther. 2010 March; 332(3): 692–697.
45. Russmann S., Kullak-Ublick G.A., Grattagliano I. Current Concepts of Mechanisms in Drug-Induced Hepatotoxicity. Curr. Med. Chem. 2009. 16 (23), p. 3041-3053.
46. Sahreen S., Khan M-R-. Khan R.A. Hepatoprotective effects of methanol extract of Carissa opaca leaves on $CCl_4$-induced damage in rat. BMC Complement Altern Med. 2011. 11. 48.
47. Saito C., Zwingmann C., Laeschke H. Novel mechanisms of protection against acetaminophen hepatotoxicity in mice by glutathione and N-acetylcyszeine. Hepatology. 2010. january. 51 (1), p. 246-254.
48. Schmidt L.E. Age and paracetamol self-poisoning. Gut. 2005 May. 54 (5), p. 686-690.
49. Sen A. et al. Prevention of Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxicity in rats. J.of Appl. Biol. Sci. 2007.1 (3), p. 29-32.
50. Shim J.Y. et al. Protective action oh the immunomodulator ginsan against carbon tetrachloride-induced liver injury via control of oxidative stress and the inflamatory response. Toxicol. Appl.Pharmacol. 2010. Feb. 1, 24 (3), p. 318-325.
51. Tarantino G., Di Minno M.N.D., Capone D. Drug-induced liver injury: Is it somehow foreseeable? World J Gastroenterol. 2009 June 21; 15(23): 2817–2833.
52. Tien Y-C. et al. Esculetin Ameliorates Carbon Tetrachloride-Mediated hepatic Apoptosis in Rats. Int.J.Mol.Sci. 2011. 12 (6), p. 4053-4067.
53. Uetrecht J. Adverse Drug Reactions- Springen. 2009. 556 p.
54. Yang R. et al., Prolonged treatment with N-acetylcisteine delays liver recovery from acetaminophen hepatotoxicity. Crit. Care. 2009. 13 (2). R55.
55. Xiao-Wen Li et al., Mechanism underlying carbon tetrachloride-inhibited protein synthesis in liver. Wold J.gastroenterol. 2010. Aug. 21. 16 (31), p. 3950-3956.
56. Verma N. et al. Protective effect of ethyl acetate fraction of Rhododendron arboreum flowers against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in experimental models. Indian J.Pharmacol. 2011. May-Jun. 4 (3), p. 291-295.
57. Wagoner J.et al., Multiple effects of silymarin on the hepatitis C virus lifecycle. Hepatology. 2010 Jun;51(6):1912-21.
58. Wolf K.K. et al. Role of CYP 3A and CYP 2E1 inAlcohol-Mediated Increases in Acetaminophen Hepatotoxicity: Comparison of Wild-Type and Cyp 2e1 (-/-)Mice. Drug Metab.Dispos. 2007. Jul.; 35 (7), p. 1223-1231.
59. Бабак О.Я. Современные предсьавления о лекарственно-индуцированном поражении печени. Здоровья Украины. 2007. № 20/1. с. 34-36.

60. Бабак О.Я. Лекарственные поражения печени: вопросы теории и практики. In Farmacia. 2008. №4 (120), с. 83-88.
61. Бакулин И.Г., Сандлер Ю.Г. Возможности применения гепатопротекторов в практике врача-терапевта. Consilium Medicum Ucraina 2010, nr.2, с. 13-18.
62. Буеверов А.О. Патогенетические подходы к терапии лекарственных поражений печени. Consilium Medicum. Гастроэнтерология. 2008. № 1. с. 43-46.
63. Буеверов А.О. Возможности патогенетической терапии внутрипеченочного холестаза при лекарственных поражениях печени. Российские Медицинские Вести. 2010. том. XV, № 4, с. 64-67.
64. Венгеровский А.И. Фармакологические подходы к регуляции функций печени. Бюллетень сибирской медицины. 2002, nr.1, с. 25-29.
65. Виноградова С.В., Кравченко Н.А. Молекулярно-генетические основы гепатотоксичности некоторых лекарственных препаратов. ЛІКАРСЬКА ТОКСИКОЛОГІЯ. Микроклеточная технология Украины. 2007. №3.
66. Губергриц Н.Б. «»Эссенциале фортк Н» и «Эссенциале Н» в гепатологии и гастроэнтерологии. Сучасна гастроэнтерология, 2008, nr.5 (43), с. 79-89.
67. Доркина Е.Г. Гепатопротективные свойства флавоноидов (фармакодинамика и преспективы клинического применения). Автореф. докт. биол.наук. Волгоград. 2010. 35 с.
68. Залесский В.Н., Дынник О.Б. Механизмы токсикант-индуцированного апоптоза клеток печени. Современные проблемы токсикологию 2006. № 3. с. 13-20.
69. Ивашкин В.Т. и др. Лекарственно-индуцированное поражение печени: универсальные структурные маркеры. РЖГГК. 2009. № 2, с. 20-29.
70. Ипатова О.М. Фосфоглив: механизм действия и применение в клинике. М. 2005. 318 с.
71. Калачнюк Т.Н. Оценка тяжести течения и эффективности терапии лекарственных гепатитов. Автореферат дисс.на соискание ученой степени канд. мед. наук. Москва. 2011. 21 с.
72. Ключарева А.А. Лекарственный гепатит. Медицинские новости. 2007. № 14. с. 19-24.
73. Козлова М.А., Арешидзе Д.А., Снисаренко Т.А. Регенераторный потенциал печени крыс в возрасте трех месяцев под влиянием ферментативного влияния ферментативного гидролизата хлорофитума хохлатого. Вестник МГОУ Серия «Естественные науки». 2011. № 1, с. 37-42.
74. Ковтун А.В. и др. Лекарственно-индуцированные поражения печени. Диагностика и лечение. Лечащий врач. 2011. №2, с. 16-20.
75. Крамарев С.А. Современные гепатопротекторы в гепатологии. Здоровья Украины 2009, nr.1, с. 5-9.
76. Куценко С.А. Основы токсикологии. Санкт-Петербург. 2002. 360с.
77. Матвеев А.В. и др. Гепатопротективные свойства силимарина. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология (клиническая фармакология). 2011 nr.2, с.130-135.
78. Морозов С.В., Кучерявый Ю.А. Гепатопротекторы в клинической практике: рациональные аспекты использования (пособие для врачей). М. 2011, 30 с.
79. Мухин Н.А., Моисеев С.В. Лекарственная гепатотоксичность. Клиническая гепатология. 2010. №2, с. 3-7.

80. Новиков В.Е., Климкина Е.И. Возможности фармакологической протекции функций печени. Вестник Смоленской медицинской Академии. 2005, nr.3, с. 36-53.

81. Оковитый С.В., Шуленин С.Н. Клиническая фармакология гепатопротекторов. 2006, 80 с.

82. Пентюк А.А., Мороз Л.В., Паламарчук О.В. Поражение печени ксенобиотиками. Современные проблемы токсикологии. 2001. № 2, с.8-16.

83. Полунина Т.Е., Маев И.В. Клиника, диагностика и коррекция острого лекарственного гепатита. Лечащий врач. 2007. № 1.

84. Полунина Т.Е., Маев И.В. Лекарственный гепатит. Consilium Medicum. Гастроэнтерология. 2008. № 1, с. 3-9.

85. Полунина Т.Е., Маев И.В. Место гепатопротекторов в практике интерниста. Consilium Medicum, Гастроэнтерология, 2010, nr. 1, с. 95 – 101.

86. Порядин Г.В. Патофизиология печени. Методические разработки для самостоятельной работы студентов лечебного и педиатрического факультета. М.,РГМУ, 2006, 28 с.

87. Рыжкина А.В. и др. Патогенетическое обоснование применения эффективных гепатопротективных средств при экспериментальной токсической гепатопатии. В кн.: «Здоровье и образование в XXI веке».материалы VII Международной научно-практической конференции. Ярославль 23-26 ноября 2006. с. 426.

88. Саратиков А.С. и др. Гепатопротективные свойства полифенольных комплексов из древесины и клеточной культуры маакии амурской. Бюллетень сибирской медицины. 2008. №1.с. 51-55.

89. Савустьяненко А.В. Современные тенденции применения гепатопротекторов. Новости медицины и фармации. 2009, nr.13-14.

90. Скрыпник И.Н. Медикаментозные гепатиты: современные аспекты диагностики и лечения. Consilium Medicum. 2008. том 10, № 8. с. 48-53.

91. Скрыпник И.Н. Проблема гепатотоксичности антибактериальных препаратов с точки зрения современной медицины. Здоровья Украины. 2009. № 7. с. 36-37.

92. Смольякова В.И. и др. Антиоксидантные эффекты тиофана при экспериментальном поражении печени тетрахлорметаном. Бюллетень сибирской медицины. 2010. №5.с. 98-101.

93. Степанов Ю.М., Филиппова А.Ю., Кононов И.Н. Лекарственные поражения печени: патогенез, классификациф, диагностика, лечение. Фарматека. 2005. № 2.

94. Ткач С.М. Эффективность и безопасность гепатопротекторов с точки зрения доказательной медицины. Здоровья Украины 2009, nr.6/1, с. 7-10.

95. Ушкалова Е.А. Лекарственные поражения печени. Фарматека. 2003. № 10. с. 79-95.

96. Ушкалова Е.А. Лекарственные поражения печени. Врач. 2007. № 3.с. 22-26.

97. Хазанов А.И., Плюскин С.В., Васильев А.П. и др. Клинические особенности острых лекарственных гепатитов. РЖГГК. 2009. .№ 4, с. 31-40.

98. Хотимченко М.Ю., Сонина Л.Н. Эффективность альгината кальция при токсическом поражении печени у крыс. Pacific Medical Journal.2006. №4, с. 27-31.

99. Чиркин А.А. Молекулярные механизмы поражения печени. Иммунология, ал-

лергология, инфектология. 2000. №1, с. 26-33.Чучалин В.С. и др. Роль стильбенов в механизмах гепатопротективных свойств полифенолов маакии амурской. Бюллетень сибирской медицины. 2010. №3. с. 101-105.

100. Швец Н.И., Бенца Т.М. Лекарственные поражения печени, связанные с приемом антибиотиков.Сучастна Гастроэнтерология. 2009. № 3 (47). с. 43-49.

101. Шифман Е.М., Ершов А.Л. Парацетамол: терапевтическое применение и проблемы острых отравлений. Общая реаниматология. 2007. № 1.

102. Шульпекова Ю.О. Лекарственные поражения печени. Consilium Medicum. Гастроэнтерология. 2006. том 08. № 7. с. 5-9.

103. Шульпекова Ю.О. Лекарственные поражения печени. Consilium Medicum. Гастроэнтерология. 2007. том 09. № 1

104. Шульпекова Ю.О. Лекарственные поражения печени. Справочник поликлинического врача, 2008. N 8. с. 29-32..

105. Яковенко Э.П. Современные подходы к выбору гепатопротекторов при хронических заболеваниях печени. Украинский медичний часопик, 2008, № 6, (68), XI-XII.

106. Яковенко Э.П. и др. Патогенетические подходы к терапии лекарственных поражений печени. Consilium Medicum. Гастроэнтерология. 2009, №1. с. 27-32.

107. Яковенко Э.П. и др. Патогенетические подходы к лечению хронических заболеваний печени с внутрипеченочным холестазом. Фарматека. 2009. №8, с. 25-31.

# Capitolul II

# HEPATOPROTECTOARELE ŞI ROLUL LOR ÎN PROFILAXIA ŞI TRATAMENTUL COMPLEX AL AFECŢIUNILOR FICATULUI

Modul actual de viaţă (stresul, obezitatea, alimentaţia incorectă, hipodinamia, alcoolul, fumatul etc.) şi starea mediului ambiant pot fi unii din factorii de risc responsabili de dezvoltarea diferitor maladii ale organelor interne, inclusiv a bolilor hepatice cronice. Conform datelor OMS, în ultimii 20 ani în lume s-a constatat o creştere semnificativă a maladiilor ficatului, cauză a morbidităţii şi letalităţii populaţiei. Actualmente, în lume se consideră bolnavi de afecţiunile sistemului hepatobiliar de diferită geneză (alcoolică, virală, metabolică, toxică, medicamentoasă etc.) circa 2 mlrd de oameni. În ţările CSI anual se înregistrează circa 0,5-1 mln de cazuri de maladii hepatice, ca urmare a creşterii numărului bolnavilor cu hepatite virale şi toxice, precum şi a celor cu sindromul metabolic (obezitate, dereglări ale metabolismului lipidic şi glucidic), care ulterior contribuie la dezvoltarea bolii lipidice nealcoolice a ficatului (Ткач С.М., 2009, Бакулин И.Г., Сандлер Ю.Г., 2010).

În ultimele decenii, hepatitele virale cronice (B, C etc.) constituie cauza cea mai frecventă a patologiei hepatice. După datele OMS, peste 400 mln persoane suferă de hepatita virală B (HVB) şi peste 170 mln de hepatita virală C (HVC), responsabile de dezvoltarea cirozei ficatului şi carcinomului hepatic (Бакулин И.Г., Сандлер Ю.Г., 2010).

Alcoolul se consideră unul din cei 26 factori de risc, responsabili de morbiditatea şi mortalitatea populaţiei, iar maladiile cauzate de etanol constituie circa 4% din numărul tuturor bolilor. În lume sunt înregistrate circa 1,8 mln decesuri cauzate de alcool (Бакулин И.Г., Сандлер Ю.Г., 2010).

Boala non-alcoolică a ficatului (BNAF) este o manifestare a sindromului metabolic. Astfel, la pacienţii cu obezitate, BNAF se constată la 84-96%, dintre care la 25-55% - steatohepatita non-alcoolică, la 34-47% - semne de fibroză hepatică, iar la 2-12% - ciroză hepatică (Бакулин И.Г., Сандлер Ю.Г., 2010).

Hepatitele toxice, inclusiv, medicamentoase, constituie o problemă din ce în ce mai actuală pentru hepatologie. Astfel, circa 40% din hepatitele toxice acute la pacienţii trecuţi de 50 ani sunt cauzate de medicamente, 15-30% de insuficienţe hepatice fulminante, iar 2-5% de internare din cauza icterului (Бакулин И.Г., Сандлер Ю.Г., 2010).

Tratamentul şi profilaxia maladiilor hepatice este una din problemele actuale ale medicinei. Etiologia afecţiunilor hepatice poate fi determinată de factori diverşi printre care virusurile, dereglările metabolice şi hormonale, acţiunea toxică a diferitor compuşi chimici: amine aromatice, solvenţi organici, alcoolul, medicamente (antituberculoase, analgezice, antiinflamatoare nesteroide, antiepileptice, citostatice, antibiotice, chimioterapice sintetice, amiodarona, antiretrivurale etc.). Tratamentul complex al maladiilor hepatice, în conformitate cu concepţiile contemporane, include două direcţii: terapia etiotropă şi terapia patogenetică (Лаптева Е.Н. и др., 2007, Ткач С.М., 2009, Крамарев С.А., 2011, Морозов С.В., Кучерявый Ю.А., 2011). Terapia etiotropă prevede inhibarea penetrării, decapsidării, replicării şi eliberării virusului şi actualmente este utilizată în tratamentul hepatitelor virale. Terapia patogenetică are drept scop corecţia farmacologică a verigilor patogenetice universale ale patologiei hepatice cu folosirea grupelor diverse de medicamente, printre care hepatoprotectoarelor le revine rolul principal, datorită acţiunii selective asupra ficatului. Hepatoprotectoarele se consideră preparatele capabile să crească rezistenţa hepatocitelor la acţiunea factorilor agresivi, să amplifice funcţia antitoxică şi să contribuie la restabilirea funcţiilor dereglate ale ficatului. Actualmente în acest aspect sunt studiate un număr impunător de compuşi de diferită origine, care pretind să fie incluşi în grupa hepatoprotectoarelor. Pe piaţa farmaceutică există câteva sute de preparate cu peste 1000 de denumiri, care deseori fac dificilă selectarea şi aprecierea eficacităţii şi raţionalităţii utilizării în maladiile hepatice. Această grupă de preparate este destul de heterogenă şi actualmente nu există o clasificare definită a acestora (Оковитый С.В., Шуленин С.Н., 2006, Крамарев С.А., 2011, Скакун Н.П. и др. 1995, Венгеровский А.И., 2002, ). În baza analizei literaturii de specialitate am grupat preparatele din acestă grupă în felul următor:

1) **preparate de origine vegetală:**

a) extracte din plante: silimarina şi analogii ei (carsil, legalon, silarin, silibor, silgen, somatron, flavobion, silibinina dihidrosuccinat de sodiu etc.); lohein; salsocolina; hofitol; febihol; ropren; hepaliv; Liv -52;

b) preparate vegetale combinate: hepabene; hepatofalk-planta; sibectan; galstena; choliver; hepatobil etc.;

2) **preparate ce conţin fosfolipide**: esenţiale; esenţiale forte; fosfolip; lipina; lipofen; fosfogliv; eplir etc.;

3) **preparate derivaţi de aminoacizi**: ademetionina; arginina; betaina citrat; ornitin aspartat; hepasol A; ornicetil; glutargin; hepasteril A etc.;

4) **preparatele acizilor biliari** – acidul ursodezoxicolic;

5) **preparate de origine animală**: sirepar; vitogepat; trofopar; hepatosan; vigeratina; erixina etc.;

6) **preparate sintetice**: antral; tiotriazolina; flumecinol (zixorina) etc.;

7) **preparate din diverse grupe**:

a) preparate ce conţin selen – selenit de sodiu; ebselen; piperidiniu selenofosfat;

b) vitamine: tocoferol acetat; retinol; acid ascorbic; acid alfa-lipoic (acid tioctic); lipamida, etc.

c) diverse: bemetil; inosina; betulina; lactuloza; citrulina; acidul glutamic; tiazolidina etc.;

8) **preparate combinate**: silimarin plus; hepaton, cholaflux etc.

Faţă de preparatele ce pretind să ocupe un loc în grupa hepatoprotectoarelor s-au formulat anumite cerinţe (Оковитый С.В., Шуленин С.Н., 2006. ):

- proprietăţi farmacocinetice adecvate (absorbţia, metabolism adecvat în patologia hepatică, circulaţia enterohepatică marcată etc.);
- prezenţa efectului „primului pasaj hepatic";
- capacitate marcată de a capta sau de a preîntâmpina formarea produselor intermediare toxice;
- influenţă benefică asupra stresului oxidativ;
- posibilitatea de a micşora inflamaţia;
- inhibarea fibrogenezei;
- stimularea regenerării ficatului;
- toxicitate mică etc.

Diversitatea de hepatoprotectoare determină şi explicaţiile referitoare la mecanismele lor de acţiune. Analiza şi sistematizarea datelor din literatură relevă că hepatoprotectoarele pot manifesta următoarele mecanisme de acţiune (Оковитый С.В., Шуленин С.Н., 2006, Крамарев С.А., 2011, Скакун Н.П. и др. 1995, Венгеровский А.И., 2002,):

- amplificarea funcţiei detoxicante a hepatocitelor prin creşterea rezervelor de substrate endogene (glutation, taurin, sulfat, s-adenozil-metionină etc.) sau intensificarea activităţii enzimelor ce participă în reacţiile de oxidare;
- diminuarea sau anihilarea stesului oxidativ prin inhibarea proceselor de peroxidare a lipidelor (POL), cuplare a produselor POL şi intensificarea activităţii sistemului antioxidant;
- stimularea funcţiei sintetice (acizilor nucleici, proteinelor, enzimelor etc.) şi proceselor regeneratoare;
- micşorarea proceselor inflamatoare prin influenţarea asupra efectelor prostaglandinelor, interleuchinelor, interferonilor, factorului de necroză tumorală alfa şi migrării neutrofilelor, macrofagelor, monocitelor etc.;
- reducerea şi/sau stoparea proceselor de fibrogeneză prin: preîntâmpinarea necrozei sau apoptozei hepatocitelor; diminuarea endotoxemiei cu activarea celulelor Kupffer, endoteliale etc.; stimularea activităţii colagenazelor în ficat şi blocarea activităţii enzimelor ce participă la sinteza ţesutului conjunctiv;
- modularea proceselor imune implicate în patogeneza afecţiunilor hepatice.

Într-o măsură sau alta, hepatoprotectoarelor li se atribuie următoarele efecte farmacologice: membranostabilizator, detoxicant, lipotrop, metabolic, antiinflamator, antioxidant, coleretic, litolitic, antifibrotic, antiproliferativ, antiviral, hipoamoniant, imunomodulator etc. (Оковитый С.В., Шуленин С.Н., 2006, Крамарев С.А., 2011, Скакун Н.П. и др. 1995, Венгеровский А.И., 2002,)

### Hepatoprotectoarele de origine vegetală

O grupă importantă de hepatoprotectoare atât după număr, cât şi după componenţa principiilor active, reprezintă preparatele de origine vegetală. Astfel, în plante au fost identificaţi un şir de compuşi, precum flavonolignani, flavonoizi, fosfolipide esenţiale, poliprenoli, proantocianide, polizaharide, lipoproteine, aminoacizi, vitamine, macro- şi microelemente etc.

**Preparatele silimarinei şi analogii ei.** Acestea reprezintă unele din cele mai frecvent utilizate şi mai bine argumentate preparate din punct de vedere al eficacităţii, raţionalităţii şi inofensivităţii. În ultimii 10 ani au fost publicate circa 12000 lucrări despre utilizarea extractelor din *Silybum marianum*, silimarinei şi silibininei, în calitate de agenţi antioxidanţi, chemoprotectori sau antitumorali, dar în special ca hepatoprotectori. În SUA şi Europa circa 65% pacienţi cu maladii hepatice folosesc fitopreparate. În Europa costul preparatelor silimarinei utilizate atinge 180 mln dolari. Cu toate acestea, există un şir de divergenţe (calitatea trialurilor clinice, heterogenitatea diagnosticurilor, standardizarea insuficientă a preparatelor, dozarea (după silibinină), inconstanţă etc.) în vederea unor recomandări practice bine argumentate (Loguercio C., Festi D., 2011).

Silimarina reprezintă un extract din *Silybum marianum*, care conţine compuşi naturali sau semisintetici, inclusiv 7 derivaţi din clasa flavonolignanilor (silibină A, silibină B, isosilibină A, isosilibină B, silicristină, isosilicristină şi silidianină) şi un flavonoid (taxifolină), dintre care silibininei îi revine rolul principal (Ramasamy K., Agrawal R.et al., 2008, Morishima C et al. 2010, Loguercio C., Festi D., 2011, Козько В.В и др., 2010, Юрьев К.Л., 2010, Матвеев А.В. и др., 2011). Silimarina şi silibinina nu sunt sinonime. Silibinina este cel mai important compus care în mare parte determină efectele farmacologice ale preparatelor silimarinei. Silibinina, prezentă sub formă a 2 izomeri de silibina A şi B şi isosilibinină A şi B în raport 1:1, trebuie să constituie circa 50-70% din extractul de silimarină. Din aceste considerente, preparatele silimarinei se pot deosebi prin conţinutul flavolignanului principal, care poate fi determinat de materia primă, procesele de suplimare şi extragere. Concentraţia silibininei în majoritatea produselor farmaceutice de silimarină, prezente în SUA şi alte ţări, are un diapazon de la 20 la 40% (Ramasamy K., Agrawal R.et al., 2008, Loguercio C., Festi D., 2011).

Recent, în diferite varietăţi de *Silybum marianum* s-au identificat compuşi adiţionali, precum 3-deoxiflavanolignani (silandrina, silimonina, silihermna) şi neosilihermina A şi B. Unii autori au evidenţiat un nou flavolignan – siliamandina din tinctura de fructe (Ramasamy K., Agrawal R.et al., 2008).

Deşi produsele din această plantă se utilizează mai bine de 2000 ani în tratamentul maladiilor hepatice, mecanismul acţiunii hepatoprotectoare nu este definiv cunoscut, acesta este asigurat de efectele: membranostabilizator, antioxidant, antiinflamator, antifibrotic, metabolic, imunomodulator, detoxicant, spasmolitic, regenerator etc. (Dixit N- et al., 2007, Pradhan S.C., Girish C., 2006, Feher J., Lengvel G., 2008, Morishima C. et al., 2010, Abenavoli L., t al., 2010, Loguercio

C., Festi D., 2011, Das S. et al., 2011, Скакун Н.П. и др. 1995, Венгеровский А.И., Саратиков А.С., 1997, Венгеровский А.И., 2002, Оковитый С.В., Шуленин С.Н., 2006, Степанов Ю.М., Залевский В.И., 2007, Крамарев С.А., 2011, Щекатихина А.С., 2009, Козько В.В. и др., 2010, Юрьев К.Л., 2010, Матвеев А.В. и др., 2011). Proprietăţile hepatoprotectoare ale flavonolignanilor au fost confirmate de studiile preclinice şi clinice, iar preparatele lor se folosesc pe larg atât în tratamentul, cât şi profilaxia maladiilor hepatice. Studiile experimentale au demonstrat eficacitatea preparatelor silimarinei în afecţiunile hepatice induse prin tetraclorura de carbon, acetaminofen (paracetamol), D-galactozamină, tioacetamidă, etanol, amanitină, remedii antituberculoase, ischemie, radiaţie şi infecţie virală (Dixit N. et al., 2007, Pradhan S.C., Girish C., 2006, Eminzade S. et al, 2008, El-Kamary J.et al., 2009, Morishima C. et al., 2010, Abenavoli L. et.al., 2010, Loguercio C., Festi D., 2011, Das S. et al., 2011, Скакун Н.П. и др. 1995, Венгеровский А.И., Саратиков А.С., 1997, Венгеровский А.И., 2002, Оковитый С.В., Шуленин С.Н., 2006, Степанов Ю.М., Залевский В.И., 2007, Щекатихина А.С., 2009, Козько В.В. и др., 2010, Юрьев К.Л., 2010, 2011, Крамарев С.А., 2011, Матвеев А.В. и до., 2011).

Silimarina, în leziunile hepatice induse prin tetraclorura de carbon, a demonstrat efect hepatoprotector prin reducerea sau restabilirea somnului hexobarbituric, inhibarea peroxidării lipidelor (POL ) acizilor graşi nesaturaţi şi fosfolipidelor membranare, preîntâmpinarea supresiei enzimelor detoxicante ale ficatului şi majorării markerilor enzimatici ai afecţiunii hepatice (AlAT, ASAT, FA, LDH etc.), diminuarea sau normalizarea dereglărilor morfologice (necrozei centrolobulare, distrofiei lipidice şi proteice a ficatului, infiltrarea cu mononucleare etc.). Flavonolignanii protejează membranele hepatocitelor de creşterea periculoasă a raportului colesterolului fosfolipidelor şi sfingomielinei/ fosfatidilcolinei, reduce conţinutul colagenului (Щекатихина А.С., 2009, Матвеев А.В. и до., 2011, Dixit N. et al., 2007, Pradhan S.C., Girish C., 2006, Morishima C. et al., 2010).

În afecţiunile induse de acetaminofen, silimarina reduce durata somnului hexenalic, micşorează hepatotoxictatea metotrexatului mediată de intensificarea citocromului CYP 2E1, inhibă POL, preîntâmpină depleţia glutationului redus (GSH) în ficat, normalizează activitatea enzimelor hepatice (AlAT, AsAT, FA, LDH etc.), manifestă efect coleretic şi anticolestatic şi anihilează dereglările morfologice (Щекатихина А.С., 2009, Матвеев А.В. и до., 2011, Dixit N. et al., 2007, Pradhan S.C., Girish C., 2006, Morishima C. et al., 2010, Das S. et al., 2011).

În hepatita indusă prin D-galactozamină, silimarina micşorează activitatea enzimelor markeri ale sindromului de citoliză şi colestază (restabilirea sintezei acizilor biliari şi conjugarea lor cu proteinele), precum şi atenuiază modificările la nivel celular şi subcelular (Щекатихина А.С., 2009, Матвеев А.В. и до., 2011, Dixit N. et al., 2007, Pradhan S.C., Girish C., 2006, Morishima C. et al., 2010).

În intoxicaţia acută sau cronică cu etanol silimarina preîntâmpină formarea radicalilor liberi (oxigenului singlet, radicalului hidroxil, peroxidului de hidrogen etc.) şi peroxidarea lipidelor membranare, oxidarea proteinelor şi ADN-ului, infiltrarea lipidică a ficatului, necroza moderată a hepatocitelor, majorarea enzimelor hepatice (AsAT, AlAT, GGT), depleţia GSH în ficat şi dereglarea anormală a metabolismului citochinelor (îndeosebi a TNF alfa) (Щекатихина А.С., 2009, Матвеев А.В. и до., 2011, Pradhan S.C., Girish C., 2006, Dixit N. et al., 2007, Habib-ur-Rehman M. et al., 2009, Morishima C. et al., 2010).

În studiile experimentale pe şoricei şi şobolani s-a constatat eficacitatea silimarinei în hepatotoxicitatea amanitinei (Amanita phalloides) relevată prin reducerea mortalităţii animalelor, creşterea enzimelor hepatice şi dereglărilor morfologice atât utilizată cu scop de pretratament, cât şi posttratament (Щекатихина А.С., 2009, Матвеев А.В. и др., 2011, Pradhan S.C., Girish C., 2006, Dixit N. et al., 2007, Morishima C. et al., 2010).

Experimental s-a demonstrat capacitatea silimarinei de a diminua hepatotoxicitatea preparatelor antituberculoase (rifampicina, izoniazida, pirazinamida, etambutolul) relevată prin normalizarea nivelului proteinelor totale, albuminei, bilirubinei totale şi activităţii transaminazelor şi fosfatazei alcaline, dereglărilor morfologice) (Eminzade S. et al., 2008). Autorii consideră că efectul hepatoprotector al silimarinei este determinat de: inhibarea izoformelor CYP450; captarea formelor reactive ale oxigenului; potenţarea capacităţii antioxidante a ficatului; inhibarea sintezei citochinelor proinflamatorii; modularea apoptozei.

**Mecanismul acţiunii hepatoprotectoare a silimarinei** este determinat de: acţiunea antioxidantă; inhibarea POL; stimularea ARN polimerazei ribozomale cu intensificarea sintezei proteinelor şi amplificarea regenerării hepatocitelor; modificarea funcţiei antitoxice a ficatului prin inhibarea fazei I a detoxicaţiei; modificarea glucuronoconjugării şi prevenirea depleţiei GSH; acţiunea antiinflamatoare, antifibrotică, imunomodulatoare şi anticancerigenă (Dixit N et al., 2007, Pradhan S.C., Girish C., 2006, Loguercio C., Festi D., 2011, Das S. et al., 2011).

***Efectul membranostabilizator.*** Silimarina stabilizează membrana hepatocitelor şi permeabilitatea membranară prin influenţa asupra lipidelor membranare şi includerea fosfolipidelor în structura hepatocitelor cu menţinerea fluidităţii membranelor. Preparatul stimulează colinfosfat-citidil-transferaza cu intensificarea sintezei fosfatidilcolinei. Silimarina blochează cuplarea diferitor toxine şi medicamente cu receptorii membranari. Astfel, s-a constatat că preparatul este capabil să neutralizeze toxicitatea faloidinei şi amanitinei prin ocuparea centrilor activi ai proteinelor cu blocarea captării şi transportului toxinelor în celulă, penetrării în nucleu şi restabilirii sintezei proteinelor (Pradhan S.C., Girish C., 2006, Dixit N. et al., 2007, Morishima C. et al., 2010, Loguercio C., Festi D., 2011, Das S. et al., 2011Щекатихина А.С., 2009, Юрьев К.Л., 2010, Матвеев А.В. и до., 2011).

***Efectul antioxidant.*** Acesta este unul din cele mai importante şi cele mai bine argumentate efecte ce determină acţiunea hepatoprotectoare a flavonolignanilor (Schumann J. et al., 2003; Dixit N. et al., 2007, Pradhan S.C., Girish C., 2006, Feher J., Lerngvel G., 2008, Morishima C. et al., 2010, Loguercio C., Festi D., 2011, Das S. et al., 2011, Венгеровский А.И.., Саратиков А.С., 1997, Щекатихина А.С., 2009, Козько В.В. и др., 2010, Юрьев К.Л., 2010, Матвеев А.В. и до., 2011). Se consideră că efectul antioxidant, demonstrat *in vitro* şi *in vivo* pe diferite modele experimentale, este cauzat de: captarea speciilor reactive ale oxigenului; inhibarea enzimelor implicate în formarea radicalilor liberi (xantinoxidază, citocrom P – 450 etc.); diminuarea reacţiilor de peroxidare a lipidelor; restabilirea raportului dintre sistemul oxidant şi antioxidant (creşterea nivelului GSH, activităţii SOD, catalazei, inhibarea unor peroxidaze, micşorarea concentraţiei dialdehidei malonice, hidroperoxizilor lipidici etc.); intensificarea activităţii enzimelor responsabile de inactivarea toxicelor; reducerea activităţii macrofagilor.

Silibinina, în cazul stresului oxidativ, inhibă formarea anionului superoxid şi NO, creşte conţinutul de ATP prin fosforilarea ADP, micşorează nivelul dialdehidei malonice (DAM) şi preîntâmpină depleţia GSH, reducerea activităţii SOD, catalazei, glutationperoxidazei (GPx) şi glutationreductazei (GR). Aceste efecte sunt dependente de doză şi au fost demonstrate în studii pe: celule Kupffer izolate, hepatocite, celule HEPG2, mitocondrii izolate din hepatocitele de şobolani şi modele de ischemie/reperfuzie pe ficat de şobolan. În modele experimentale de afecţiune hepatică administrarea intragastrală peste o oră a silibininei conjugate în doză de 0,6g/kg a determinat în ficat o concentraţie de 10 µmol/L. În aceste condiţii, silibinina, îndeosebi silibinina + fosfatidilcolină, a preîntâmpinat peroxidarea lipidelor, a normalizat permeabilitatea şi respiraţia mitocondriilor. Complexul silibinină + fosfatidilcolină în concentraţia de 20 µmol/L capta direct radicalii hidroxil, hidroxietil, lipodienil, metil şi triclormetil (Loguercio C., Festi D., 2011).

Silimarina manifestă proprietăţi chelatoare faţă de ionii de $Fe^{2+}$ cu micşorarea proceselor de oxidare, cauzate de supraîncărcarea celulelor cu aceşti ioni (Loguercio C., Festi D., 2011, Щекатихина А.С., 2009, Козько В.В. и др., 2010, Матвеев А.В. и до., 2011). Recent s-a constatat că dihidrosilibinina (silibinina oxidată) manifestă o acţiune antioxidantă mai mare ca silibinina, posibil, prin capacitatea de a dona hidrogenul. Proprietatea de a capta radicalii liberi poate fi şi rezultatul unei abilităţi mai înalte de a reacţiona cu membrana celulară datorită faptului că dihidrosilibinina are o lipofilitate superioară silibininei (Loguercio C., Festi D., 2011).

Silimarina, datorită conţinutului de grupări hidroxil cu atomul de hidrogen mobil, e capabilă să neutralizeze hidroperoxizii acizilor graşi polinesaturaţi şi radicalii liberi ai oxigenului (Венгеровский А.И.., Саратиков А.С., 1997). Autorii consideră că silimarina se intercalează în stratul bilipidic al membranei cu cuplarea ionilor de fier şi inhibarea formării produselor primare şi secundare ale lipoperoxidării. Acţiunea antioxidantă s-a demonstrat în culturile de trombocite şi eritrocite la suplimentarea paracetamolului şi adriablastinei. Silimarina, pe modelele experimentale de hepatite toxice (tetraclorura de carbon etc.), preîntâmpină producerea conjugaţilor dienici, DAM şi bazelor Shiff în ficat, cu restabilirea nivelului GSH şi activităţii enzimelor antioxidante (SOD, GPx, GST etc.).

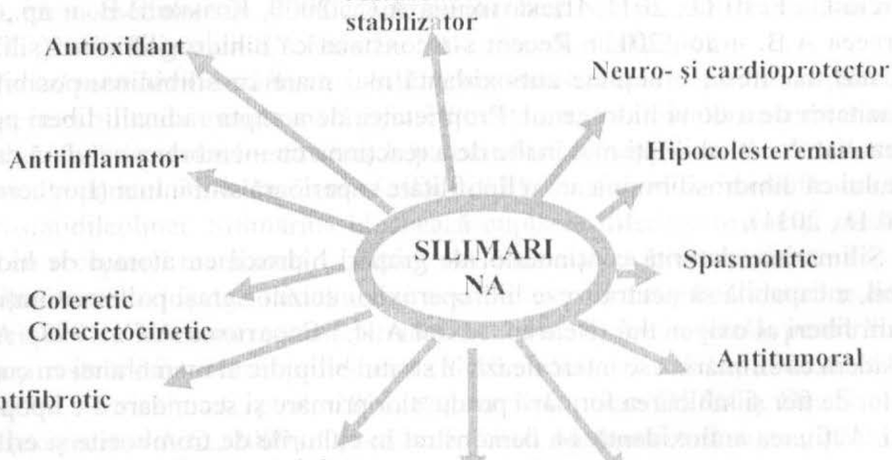
***Efectul antiinflamator şi imunomodulator.*** Un efect primordial al silimarinei constă în inhibarea 5-lipooxigenazei cu diminuarea sintezei leucotrienelor, îndeosebi al leucotrienelor B4 (LTB4), dar nu şi a prostaglandinei E2 (Pradhan S.C., Girish C., 2006, Das S. et al., 2011, Юрьев К.Л., 2010, Козько В.В. и др., 2010). În studii pe celule Kupffer izolate s-a demonstrat efectul inhibitor al silimarinei asupra sintezei LTB4, dar fără a influenţa formarea TNF-alfa (Pradhan S.C., Girish C., 2006).

Das S. şi colaboratorii (2011) au remarcat eficacitatea silimarinei în afecţiunea hepatică prin acetaminofen determinată şi de diminuarea inflamaţiei mediate de TNFalfa.

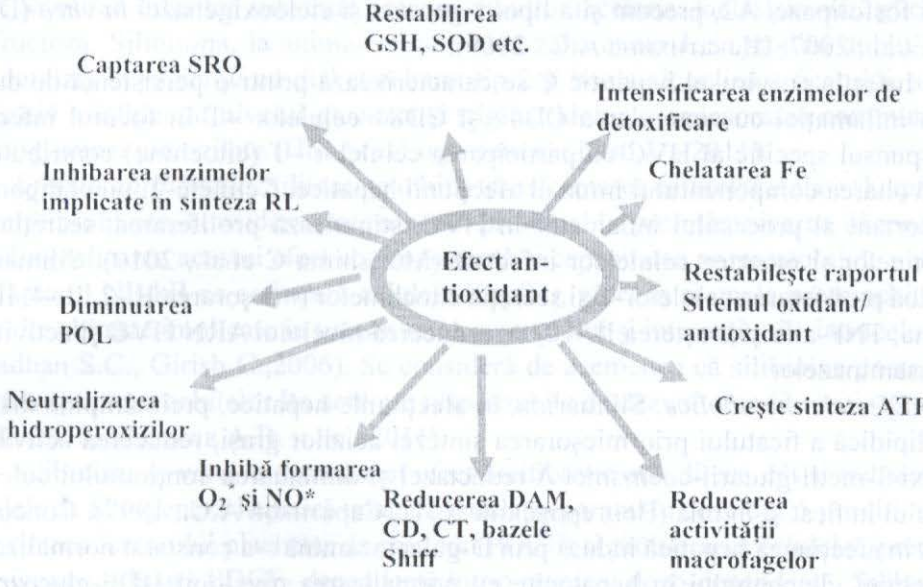
Acţiunea antiinflamatoare poate fi cauzată de inhibarea factorului nuclear NF-kB, care reglează şi coordonează expresia diferitor gene implicate în procesul inflamator, citoprotector şi de cancerogeneză. Astfel, NF-kB contribuie la formarea interleuchinelor (IL-1, IL-6), factorului de necroză tumorală alfa (TNF-alfa), limfotoxinelor, factorului stimulator al coloniilor macrofagelor-granulocitelor şi interferonului (IFN-alfa), precum şi în activitatea sistemelor redox (Schumann J et.al., 2003, Pradhan S.C., Girish C., 2006, Morishima C. et al., 2010, Das S.et al., 2011, Щекатихина А.С., 2009, Козько В.В. и др., 2010 ).

Schumann J şi coaut. (2003) au demonstrat că silibinina inhibă expresia intrahepatică a TNF-alfa, IFN-gama, IL-2, IL-4 şi NOSi cu creşterea sintezei IL-10 în hepatita T-dependentă indusă prin concanavalina A.

Loguercio C. şi Festi D. (2011) au constatat că efectul antiinflamator al silibininei se relevă prin modularea directă şi/sau indirectă (prin activitatea antioxidantă) a inflamaţiei şi fibrogenezei. Silimarina şi silibinina interferă cu cascada


Membrano-
stabilizator
Antioxidant
Neuro- şi cardioprotector
Antiinflamator
Hipocolesteremiant
SILIMARI
NA
Spasmolitic
Coleretic
Colecictocinetic
Antitumoral
Antifibrotic
Imunomodulator
Regenerator
Detoxicant

**Schema 2.1 Efectele preparatelor silimarinei.**


Restabilirea
GSH, SOD etc.
Captarea SRO
Intensificarea enzimelor de detoxificare
Inhibarea enzimelor implicate în sinteza RL
Chelatarea Fe
Efect antioxidant
Diminuarea POL
Restabileşte raportul Sitemul oxidant/ antioxidant
Neutralizarea hidroperoxizilor
Creşte sinteza ATP
Inhibă formarea $O_2$ şi NO*
Reducerea DAM, CD, CT, bazele Shiff
Reducerea activităţii macrofagelor

Schema 2.2 Efectul antioxidant al silimarinei.

controlată de factorul nuclear (NF-kB), o proteină inductibilă ce lucrează ca un factor de transducţie al genelor implicate în inflamaţie, supravieţuirea, diferenţierea şi creşterea celulelor. În celulele nestimulate NF-kB se află în citoplasmă cuplat cu proteina inhibitoare (IkBα). La activarea prin stresul oxidativ NF-kB disociază şi apoi este transportat în nucleu unde prin fosforilarea chinazică duce la expresia genelor ce contribuie la inflamaţie. Silibinina, datorită efectului antioxidant, inhibă activarea şi translocarea NF-kB prin supresia fosforilării IkBα şi intensificarea degradării ei. Preparatul în afecţiunea hepatică acută, indusă prin concanavalina A la şoricei, a redus activitatea transaminazelor în ser şi conţinutul în ser şi ficat a citochinelor proinflamatoare, prin inhibarea activării NF-kB în ficat, cu creşterea nivelului IL-10 (Loguercio C., Festi D., 2011).

Complexul silibinină + fosfatidilcolină + vitamina E, în leziunea cronică a ficatului prin dimetilnitrozamină, a prevenit micşorarea masei animalelor şi a ficatului, precum şi a redus activitatea AlAT şi procesele necrotice şi inflamatoare. Concomitent s-a diminuat activarea celulelor stelate şi s-a intensificat proliferarea hepatocitelor. Acţiunea antiinflamatoare a silibininei s-a relatat a fi determinată de interferenţa asupra căilor semnal de inducere a citochinelor, dovedit prin mecanism feedbeack de NO şi expresia COX-2, formarea şi activarea leucotrienelor în plachete, leucocite şi celulele endoteliale. În final, silibinina inhibă activarea proteinchinazelor şi chinazelor c-Jun N-terminale (Loguercio C., Festi D., 2011).

În modelele experimentale ale inflamaţiei, induse prin caragenină, xilemă şi acid arahidonic, s-a demonstrat capacitatea silimarinei de a reduce manifestările inflamaţiei. Acest efect este determinat de inhibarea migrării leucocitelor şi activităţii fosfolipazei A2, precum şi a lipooxigenazei şi ciclooxigenazei *in vitro* (Dixit N. Et al., 2007, Щекатихина А.С., 2009).

Infecţia cu virusul hepatitic C se caracterizează printr-o persistenţă de durată a inflamaţiei cu acumularea CD4+ şi CD8+ celulelor –T în focarul infectat. Răspunsul specific al HVC cu participarea celulelor –T (citochine) contribuie la dezvoltarea componentului imun al afecţiunii hepatice. Celulele-T, un component important al procesului inflamator în HVC, stimulează proliferarea, secreţia citochinelor şi moartea celuleleor infectate (Morishima C et.al., 2010). Silimarina inhibă proliferarea celulelor-T şi secreţia citochinelor (micşorarea IL-2, IL-4, IFN-gama, TNF-alfa şi creşterea IL-10) cu reducerea nivelului ARN HVC şi activităţii transaminazelor

***Efectele metabolice.*** Silimarina, în afecţiunile hepatice, preîntâmpina distrofia lipidică a ficatului prin micşorarea sintezei acizilor graşi, reducerea activităţii 3-oxi-3-metil-glutaril-coenzimei A reductazei şi diminuarea conţinutului colesterolului în ficat şi în bilă (Венгеровский А.И.., Саратиков А.С., 1997). Concomitent în afecţiunea hepatică indusă prin D-galactozamină s-a constatat normalizarea nivelului glicogenului în hepatocite cu normalizarea nivelului UDF-glucozei şi UDF-glucuronidului. Autorii menţionează că efectul benefic asupra metabolismului lipidic şi glucidic este determinat de inhibarea fosfodiesterazei cu acumularea AMPc în celulă.

Silimarina intensifică sinteza proteinelor şi regenerarea hepatocitelor relevată prin stimularea includerii acidului orotic în ARN ribozomal, leucinei în proteinele microzomiale şi glucozei în glicoproteinele microzomale (Венгеровский А.И.., Саратиков А.С., 1997, Щекатихина А.С., 2009). Autorii au remarcat de asemenea capacitatea preparatului de a intensifica regenerarea ficatului după hepatectomie şi supunerea animalelor radiaţiei prin creşterea sintezei ADN, histonelor nucleare, activităţii mitotice a hepatocitelor şi celulelor Kupffer.

Un efect important al flavonolignanilor se reduce la stimularea enzimelor fazei a doua de metabolizare, relevată prin intensificarea proceselor de conjugare a bilirubinei şi toxinelor cu acidul glucuronic şi eliminarea rapidă prin bilă, ce explică eficacitatea silimarinei în sindromul de colestază (Козько В.В. и др., 2010, Матвеев А.В. и до., 2011).

Silibinina interferă cu unele mecanisme de acţiune ale insulinei. Ea modulează recaptarea glucozei în adipocite prin blocarea transportatorului 4 al glucozei (GLUT4) insulin-dependent. Silibinina, în concentraţii de 25-100µmol/L, pe hepatocitele de şobolan, a micşorat formarea glucozei din diferite substrate ale gluconeogenezei prin inhibarea activităţii piruvatchinazei. Preventiv, s-a raportat, că silibinina în doze mici în cultura de hepatocite a redus formarea SRO de către mitocondrii datorită reducerii oxidării hidrocarburilor prin glicoliză. În afară de aceasta silibinina, într-o manieră dozo-dependentă, a inhibat gluconeogeneza şi glicogenoliza atât în condiţii bazale, cât şi după stimularea glucagon-dependentă datorită blocării glucozo-6-fosfat hidrolazei. Acest efect a fost demonstrat prin folosirea diferitor substrate precum dihidroxiacetona, lactat/piruvat, glicerol şi fructoza. Silibinina, la animalele cu diabet zaharat tip 1, în studiul dublu-orb, randomizat la pacienţii cu diabet zaharat tip 2 şi boala alcoolică a ficatului, semnificativ a influenţat nivelul glucozei şi trigliceridelor cu micşorarea conţinutului hemoglobinei glicozilate (Hb1Ac) (Loguercio C., Festi D., 2011).

***Efectul antifibrotic.*** Silimarina inhibă transformarea celulelor stelate (Kupffer) în miofibroblaste, considerat mecanismul principal în preîntâmpinarea fibrogenezei. La realizarea acestui efect are importanţă şi capacitatea preparatului de a inhiba factorul NF-kB ce activează celulele Kupffer, precum şi unele proteinchinaze sau alte chinaze implicate în transmiterea semnalului şi interacţiunile intracelulare (Pradhan S.C., Girish C.,2006). Se consideră de asemenea că silibinina poate accentua apoptoza celulelor Ito activate responsabile de dezvoltarea fibrozei (Юрьев К.Л., 2010, Матвеев А.В. и до., 2011).

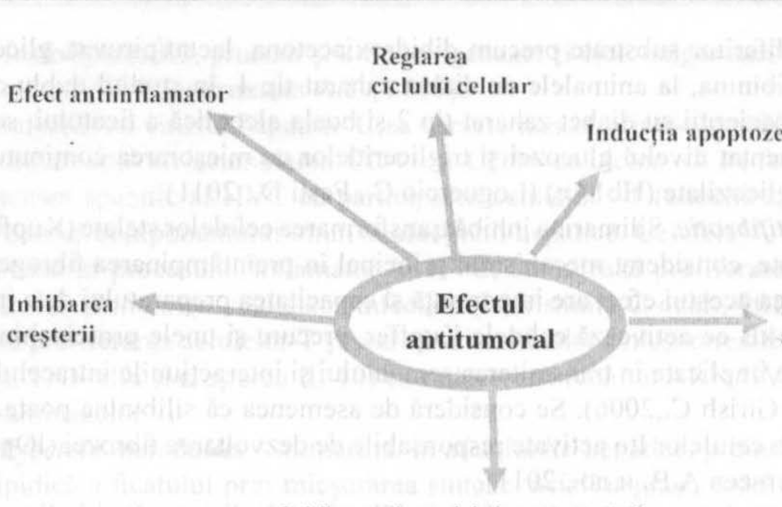
Silibinina, *in vitro*, a demonstrat efect antifibrotic atât direct, cât şi indirect pe modele de fibrogeneză hepatică umană. Astfel, preparatul în doze de 25 μmol/L a redus sinteza factorului plachetar de creştere (PDGF) şi proliferarea celulelor, precum şi migrarea celulară PDGF- dependentă într-o manieră dozo-dependentă. Silibinina (25-50 μmol/L) a micşorat sinteza de novo TGF-beta-indusă a procolagenului tip I în supernatantul de celule. Preparatul inhibă sinteza proteinei MCP-1 umane (proteina chemoatractantă a monocitelor) indusă de IL-1 şi detectarea IL-8 în supernatantul celular, fapt ce confirmă proprietăţile proinflamatoare ale celulelor hematopoietice stem stimulate de IL-1 beta. Acest efect al silibininei se datorează inhibării fosforilării IkBα, precum şi a ERK, MEK şi Raf. Efectul antifibrotic a fost demonstrat în studii experimentale şi clinice (Loguercio C., Festi D., 2011).

***Efectul antiviral.*** Studiile recente au demonstrat acţiunea antivirală a silimarinei în primul, rând a silibininei A şi B, izosilibininei A şi B, în infecţia cu virusul hepatitei C relevată prin inhibarea ARN-polimerazei ARN dependente (Ahned-Belkacem A., 2010, Hawke R,L. et.al., 2010). Wagoner J şi coaut. (2010) relatează despre capacitatea silimarinei de a manifesta efect antiviral în hepatita virală C prin inhibarea: penetrării virusului în celule; expresiei ARN şi proteinelor virale; activităţii NS5B polimerazei.

Silibinina, datorită acţiunii antioxidante şi antiinflamatoare, de asemenea a demonstrat un efect antiviral. În concentraţii de 20 μmol/L ea inhibă expresia proteinelor şi replicarea virusului HVC în celulele polimorfonucleare infectate de la pacienţii cu HVC (Loguercio C., Festi D., 2011).

Concomitent silimarina, în afară de acţiunea hepatoprotectoare, manifestă efect coleretic, colecistocinetic, hipocolesteremiant, neuroprotectiv, cardioprotectiv, antitumoral.

**Utilizarea clinică**. Preparatele din *Silybum marianum* au o istorie de peste 2000 de ani de utilizare. Aceasta reflectă pe de o parte situaţia epidemiologică a maladiilor hepatice, pe de alta intenţia din cele mai vechi timpuri de a folosi plantele medicinale în tratamentul afecţiunilor ficatului, fiind considerate ca inofensi-



**Schema 2.3 Efectul antitumoral al silimarinei.**

ve. Dacă ciroza hepatică este una din manifestările clinice evidente ale patologiei hepatice şi alcoolul este unul din factorii patogenetici cunoscuţi, atunci silimarina şi alte fitopreparate sunt cele mai frecvent utilizate remedii. Creşterea incidenţei hepatitelor virale şi elucidarea verigilor patogenetice au focusat studiile de elaborare a preparatelor antivirale. Ca răspuns la elucidarea afecţiunilor metabolice ale ficatului s-au intensificat cercetările la nivel molecular şi submolecular pentru a preveni inducţia şi progresia maladiilor ficatului, inclusiv şi prin studierea aprofundată a produselor naturale în vederea argumentării eficacităţii terapeutice. Experienţa clinică de utilizare a silibininei este bazată pe proprietăţile dezintoxicante şi hepatoprotectoare, care justifică administrarea ei în patologia acută şi cronică a ficatului (Loguercio C., Festi D., 2011).

Preparatele silimarinei actulamente sunt recomandate în tratamentul bolii alcoolice a ficatului (steatoza, steatohepatita, ciroza) (Feher J., Lengvel G., 2008, Abenavoli L. et al., 2010, Loguercio C., Festi D., 2011, Венгеровский А.И.., Саратиков А.С., 1997, Юрьев К.Л., 2010); steatohepatita non-alcoolică; hepatitelor toxice acute şi cronice (Abenavoli L., et al., 2010, Loguercio C., Festi D., 2011); hepatitelor cronice persistente şi active; hepatitelor virale cronice (Abenavoli L., et al., 2010, Morishima C et.al., 2010, Loguercio C., Festi D., 2011, Юрьев К.Л., 2010); hepatite virale acute (El-Kamary S.S. et.al., 2009, Юрьев К.Л., 2010, 2011) ciroze hepatice (Dixit N. et al., 2007, Pradhan S.C., Girish C., 2006, Morishima C. et al., 2010, Luguercio C., Festi D., 2011, Щекатихина А.С., 2009, Матвеев А.В. и др., 2011); intoxicaţii cu Amanita phalloides (Loguercio C., Festi D., 2011; Das S.et al., 2011, Юрьев К.Л., 2010).

Una din indicaţiile de bază ale silimarinei este boala alcoolică a ficatului (Dixit N. et al., 2007, Pradhan S.C., Girish C., 2006, Feher J., Lengvel G., 2008, Abenavoli L. et al., 2010, Luguercio C., Festi D., 2011, Венгеровский А.И.., Саратиков А.С., 1997, Щекатихина А.С., 2009, Козько В.В. и др., 2010, Юрьев К.Л., 2010, 2011, Матвеев А.В. и до., 2011,). La utilizarea preparatelor silimarinei s-a constatat o evoluţie pozitivă a simptomelor clinice, parametrilor de laborator (AlAT, AsAT, GGT, FA, bilirubinei , lipidelor, trigliceridelor etc.) şi dereglărilor histologice (micşorarea steatozei, hepatitei şi fibrozei) dependentă de durata utilizării (peste 3 luni) şi doza preparatului (140-420 mg/zi).

Silimarina exercită efect curativ în hepatitele induse de toxice ($CCl_4$, dicloretat, amanitină etc.) şi medicamente (paracetamol, izoniazidă, rifampicină, pirazinamidă, etambutol, tacrină etc.,) cu reducerea reacţiilor adverse ale acestora (Венгеровский А.И.., Саратиков А.С., 1997, Козько В.В. и др., 2010, Dixit N. et al., 2007, Pradhan S.C., Girish C., 2006, Feher J., Lengvel G., 2008, Habib-ur-Rehman M.et al., 2009, Das S et al., 2011). În studiile experimentale şi clinice (intoxicaţia cu *Amanita phalloides*), silimarina creşte supravieţuirea, inhibă absorbţia amanitinei şi daloidinei din intestin, întrerupe circulaţia enterohepatică, iar în ficat reduce penetrarea toxinelor în hepatocite, polimerizarea actinei din membranele plasmatice şi majorează sinteza factorilor II,V, VII şi X de coagulare (Щекатихина А.С., 2009, Матвеев А.В. и др., 2011, Pradhan S.C., Girish C., 2006, Dixit N. et al., 2007, Morishima C. et al., 2010, Luguercio C., Festi D., 2011).

Remediile antitumorale (dactinomicina, docetaxel, gemcitabina, 6-mercaptopurina, metotrexat, oxiplatina etc.) sunt cunoscute ca potenţial hepatotoxice. Preparatele din *Silybum marianum* se foloseau empiric sau erau prescrise de clinicieni ca hepatoprotectoare, reieşind din efectele multiple, precum şi din incidenţa crescută a leziunilor hepatice datorită creşterii tumorale, metabolizarea produselor generate de distrucţia tumorii prin chimioterapie şi radioterapie, sau de inactivarea preparatelor antitumorale. Silibinina se consideră un potenţial inhibitor al beta-glucuronidazei intestinale cu blocarea eliberării şi reabsorbţiei xenobioticelor şi metaboliţilor lor din glucuronoconjugaţi. Preparatul, de asemenea, prin proprietăţile detoxicante poate amplifica funcţia respectivă a ficatului. Un studiu randomizat, dublu-orb a raportat despre eficacitatea preparatelor din *Silybum marianum* la 50 copii cu limfoblastom acut prin reducerea semnificativă a activităţii transaminazelor şi nivelului bilirubinei (Luguercio C., Festi D., 2011).

Silimarina în hepatitele virale acute şi cronice, deşi nu influenţează replicarea virală, exercită efect benefic prin: diminuarea proceselor inflamatoare şi citotoxice induse de infecţia virală; normalizarea activităţii enzimelor hepatice; accelerarea sintezei proteinelor şi regenerării (Pradhan S.C., Girish C., 2006, Dixit N. et al., 2007, Polyak S.J.et al., 2007, Hawke R.L.,et al., 2010, Ahmed-Belkacem A.et al., 2010, Степанов Ю.М., Залевский В.И., 2007, Козько В.В. и др., 2010, Юрьев К.Л., 2010, 2011). În aces caz silimarina se consideră o terapie complementară şi alternativă.

Analiza datelor experimentale şi clinice relevă un şir de avantaje ale silimarinei, precum: micşorarea sindromului de citoliză; efect antifibrotic indirect; eficacitatea în intoxicaţiile cu ciuperci *Amanita phalloides* (forma specială pentru administrarea intravenoasă silibinina dihidrosuccinat de sodiu în calitate de antidot); creşterea procentului de supravieţuire în ciroza hepatică; absenţa reacţiilor adverse. În acelaşi timp e necesar de reţinut şi unele dezavantaje ale acestor preparate: biodisponibilitate mică a silibininei la administrarea enterală; eficacitatea în hepatita vrală C doar la administrarea intravenoasă; precauţii la pacienţii cu colestază care poate fi accentuată; studii randomizate unice (cu grad de dovezi B, C); concentraţii variate de silibinină în formele medicamentoase (Ткач С.М., 2009, Бакулин И.Г., Сандлер Ю.Г. , 2010, Крамарев С.А., 2011, Матвеев А.В.,и др. 2011, Морозов С.В., Кучерявый Ю.А., 2011). Autorii, reieşind din studiile randomizate, recomandă preparatele silimarinei în tratamentul hepatitelor toxice (îndeosebi cu ciupercile Amantina phalloides), alcoolice, medicamentoase, hepatitei virale C (forma parenterală), cirozei hepatice de diferită geneză. Alte indicaţii ce persistă în instrucţiunile sau prospectele silimarinei şi analogilor ei necesită efectuarea unor studii multicentrice randomizate pentru obţinerea unor argumente convingătoare.

O problemă importantă, ce determină eficacitatea silimarinei şi analogilor ei, o constituie particularităţile farmacocinetice şi farmaceutice. Astfel, legalonul, care este etalonul silimarinei şi conţine peste 60% silibinină, este unicul preparat pe piaţa farmaceutică a cărui componenţă este bine studiată şi nu prezintă taină comercială pentru medic şi pacient. Divergenţele constatate în studiile clinice ale preparatelor silimarinei în mare parte se explică prin folosirea materiei prime cu un conţinut variat de silibinină (dependentă şi de regiunile climato-geografice) şi prin metodele adecvate de control a silimarinei (cromatografia pe lichide cu eficacitate înaltă - CLEÎ), utilizate în Europa şi SUA. Astfel, studiul conţinutului de flavolignani în preparatele comercializate în ţările CSI prin metoda CLEÎ a demonstrat variaţii mari, dar mai mici ca în preparatul etalon – legalon, în conţinutul silibininei. Concomitent s-a constatat că în unele produse, de rând cu micşorarea cantităţii de silibinină, pot fi crescute cele ale altor flavonolignani precum silicristina (Матвеев А.В., Коняева Е.И., Кучеренко В.П. и др. 2011). Autorii concluzionează că eficacitatea şi inofensivitatea silimarinei în mare măsură depinde de raportul flavolignanilor în preparat, calitatea materiei prime folosite şi metodele de determinare a conţinutului şi, respectiv, a bioechivalenţei preparatelor generice.

O atenţie deosebită prezintă regimul de dozare, care în mare măsură a determinat şi divergenţele în eficacitatea silimarinei în studiile clinice. Actualmente se consideră că în cazurile uşoare şi medii, sau cu scop profilactic, sunt necesare doze de 210 mg/zi (70 mg de 3 ori/zi), iar cele grave – 420 mg/zi (140 mg de 3 ori/zi) (Морозов С.В., Кучерявый Ю.А., 2011).

Eficacitatea flavonolignanilor silimarinei depinde de biovalabilitatea şi atingerea concentraţiei terapeutice în organele interesate. Componenţii silimarinei au o solubilitate mică în apă, iar studiile preclinice şi clinice au demonstrat concentraţii în plasmă de ordinul ng/ml după administrarea internă a extractelor uscate. Rata de absorbţie a silimarinei variază între 20 şi 50%. Silibinina a fost obţinută în formă pură, iar studiile de farmacocinetică au arătat o corelaţie liniară la doze de 0,5-100 μg/ml. Silibinina, după administrarea la şobolani, era rapid distribuită în plasmă şi bilă cu un echilibru între sânge şi sistemul hepato-biliar. Preparatul, similar celorlalţi flavolignani, este puţin solubil în apă, are o absorbţie intestinală şi biovalabilitate mică. În acest context s-au obţinut diferiţi compuşi complecşi mai solubili precum: silibinină bis-hemisuccinat beta-ciclodextran; silibinină N-metil-glicamină; silibinină-11-O-fosfat; silibinină fosfatidilcolină. Pentru creşterea solubilităţii silibininei s-a recurs, de asemenea, la sinteza enzimatică a beta-glicozidelor precum: silibinină beta-galactozidă; silibinină beta-glucozidă; silibinină beta-maltozidă şi silibinină beta-lactozidă. Promedicamentele hidrosolubile ale silibininei în final au fost sintetizate cu un polimer hidrosolubil – polietilenglicol (Ramasamy K., Agrawal R., 2008, Luiguercio C, Festi D., 2011).

Un interes deosebit prezintă silibinina fosfatidilcolină (silipid, silifos) şi asocierea ei cu vitamina E (realisil), care prezintă o disponibilitate mai mare decât preparatele silimarinei. Astfel, studiul farmacocineticii la om a silimarinei, silibininei şi silibinină fosfatidilcolină au demonstrat disponibilitate superioară a complexului respectiv. În sânge silibinina se află sub formă de conjugaţi mono- şi diglucuronid, monosulfat şi glucuronid silfat, iar silibinina B constituie circa 71% din glucuronizi. Asocierea silibininei cu fosfatidilcolina şi vitamina E a realizat concentraţii plasmatice net superioare silimarinei la voluntari (Loguercio C, Festi D., 2011).

Studiile recente de farmacocinetică şi farmacodinamie au elucidat influenţa metaboliţilor conjugaţi asupra efectelor farmacologice. Astfel, silibinina 20-O-beta-D-glucuronid are o capacitate mai mică de captare a radicalilor liberi ca silibinina, în timp ce silibinina-7-O-beta-D-glucuronid invers, manifestă proprietăţi antiradicalice superioare (Loguercio C., Festi D., 2011).

La pacienţii cu maladii hepatice (ciroza hepatică compensată) nu s-au constatat modificări esenţiale ale cineticii silibininei, însă biodisponibilitatea silibinină-fosfatidilcolină era mai mare. S-a constatat, de asemenea, că la bolnavii cu hepatite cronice, îndeosebi la prezenţa inflamaţiei (prin nielul crescut al caspazelor), are loc diminuarea biodisponibilităţii componenţilor silimarinei, din care cauză se poate determina un efect mai redus al preparatelor acesteia (Loguerciu C, Festi D., 2011).

### Alte hepatoprotectoare vegetale

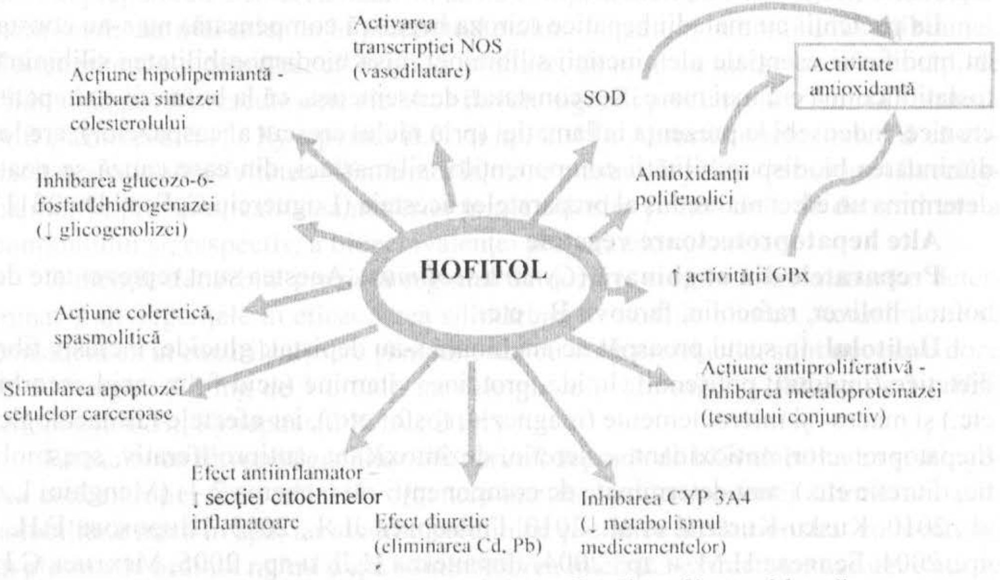
**Preparatele din anghinară** (*Cynara scolimus*). Acestea sunt reprezentate de: hofitol, holiver, rafacolin, farcovit $B_{12}$ etc.

**Hofitolul**. În sucul proaspăt de anghinară s-au depistat: glucide, inclusiv fibre dietetice (inulina); polifenoli; lipide, proteine; vitamine (acid folic, acid ascorbic etc.) şi macro- şi microelemente (magneziu, fosfor etc.), iar efectele farmacologice (hepatoprotector, antioxidant, coleretic, dezintoxicant, antiproliferativ, spasmolitic, diuretic etc.) sunt determinate de componenţii săi (schema 2.4) (Menghini L.et al., 2010, Kusku-Kuraz Z et al., 2010, Григорьев Л.Я., 2003, Широкова Е.Н. и др., 2004, Беляева Н.М. и др., 2004, Лоранская И.Д. и др., 2005, Мехтиев С.Н. и др., 2008, Чернега Н.В. и др., 2009, Громова О.А., Торшин И.Ю., 2009).

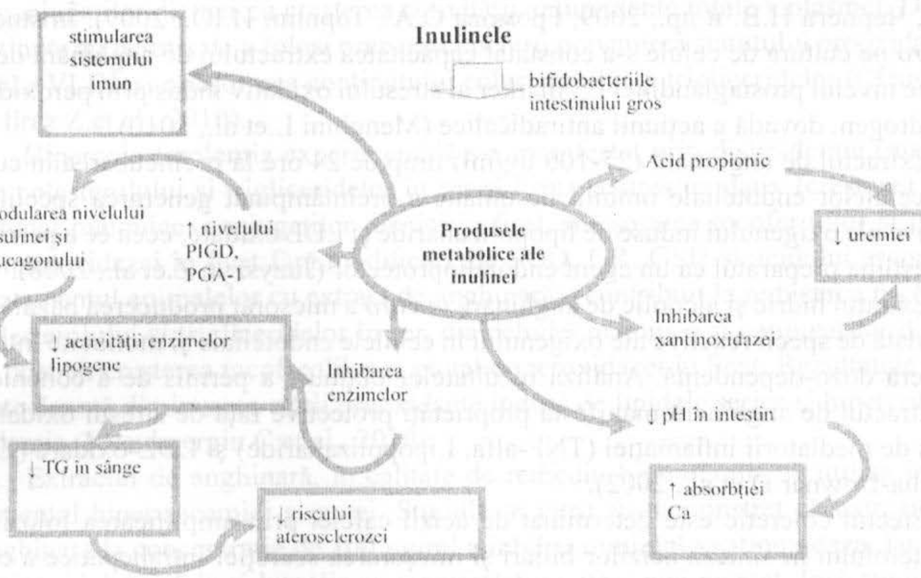
Inulinele reprezintă polizaharide vegetale, derivaţi de fructani, care nu pot fi hidrolizate de amilaza şi ptialina umană, dar care se metabolizează de bacteriile specifice ale intestinului. Aceste polizaharide stimulează creşterea bifidobacteriilor şi reţin astfel dezvoltarea microorganismelor patogene.

Inulina constituie unul din componenţii anghinarei şi este responsabilă de un şir de efecte fiziologice (schema 2.5). Astfel, inulina sau produsele metanolice cresc nivelul peptidei insulinotrope glucozodependente (PIGD) şi peptidei-1 asemănătoare glucagonului (PGA-1) care modulează secreţia insulinei şi glucagonului cu micşorarea activităţii enzimelor lipogene şi a nivelului trigliceridelor în sânge ceea ce reduce riscul aterosclerozei. Micşorarea trigliceridelor în sânge poate fi cauzată de acţiunea inhibitoare directă a metaboliţilor inulinei asupra activităţii enzimelor lipogene sau prin modificarea expresiei genelor. Un mecanism alternativ poate fi modificarea nivelului PIGD şi PGA-1. S-a constatat că inulina poate modifica nivelul uremiei prin acidul propionic sau prin inhibarea xantinoxidazei cu reducerea formarării acidului uric din purine (Громова О.А., Торшин И.Ю.,2009).

Substanţele polifenolice sunt reprezentate prin peste 45 de derivaţi ai acizilor cafeinchininici (cafeinic, clorogenic, ferulic, cafeinchininic etc.) şi flavonoizi (luteolină, apigenină, cinarină, cianidină, cinaropicrină, scolimozid, scopoleptină hesperidină etc.). Acidul clorogenic, prezent şi în alte plante, manifestă efect antioxidant, micşorează eliberarea glucozei în sânge, inhibă glucozo-6-fosfataza şi glicogenoliza hepatică. Acidul cafeic este un anioxidant, antiinflamator, imunomodulator şi antimicotic, micşorează nivelul aflatoxinei (substanţă cancerigenă) produsă de flora fungică patogenă. Acidul ferulic reprezintă forma metilată a aci-


Activarea transcripţiei NOS (vasodilatare)
Acţiune hipolipemiantă - inhibarea sintezei colesterolului
SOD
Activitate antioxidantă
Inhibarea glucozo-6-fosfatdehidrogenazei (↓ glicogenolizei)
Antioxidanţii polifenolici
HOFITOL
↑ activităţii GPx
Acţiune coleretică, spasmolitică
Stimularea apoptozei celulelor carceroase
Acţiune antiproliferativă - Inhibarea metaloproteinazei (ţesutului conjunctiv)
Efect antiinflamator – ↓ secţiei citochinelor inflamatoare
Efect diuretic (eliminarea Cd, Pb)
Inhibarea CYP 3A4 (↓ metabolismul medicamentelor)

**Schema 2.4 Efectele extractului standardizat din anghinară.**


stimularea sistemului imun
Inulinele
bifidobacteriile intestinului gros
Acid propionic
Modularea nivelului insulinei şi glucagonului
↑ nivelului PIGD, PGA-1
Produsele metabolice ale inulinei
↓ uremiei
↓ activităţii enzimelor lipogene
Inhibarea xantinoxidazei
Inhibarea enzimelor
↓ pH în intestin
↓ TG în sânge
↑ absorbţiei Ca
↓ riscului aterosclerozei

**Schema 2.5 Efectele inulinelor din extractul standardizat de anghinară.**

dului cafeic şi poate fi responsabil de acţiunea antioxidantă şi proapoptotică faţă de celulele canceroase (Громова О.А., Торшин И.Ю., 2009).

Cinarina este un derivat compus al acidului cafeic şi determină un gust amar fin al anghinarei, induce apoptoza celulelor canceroase, iar acidul 1,5 dicafeinochininic accelerează evacuarea bilei şi micşorează nivelul colesterolului. Cianidina manifestă efect antioxidant mai puternic decât acidul ascorbic, tocoferolul şi resveratrolul, iar derivatul cianidin-3(6-malonil) glicozid este un antocianid. Cinaropicrina posedă efect spasmolitic tip papaverină şi micşorează nivelul trigliceridelor în sânge. Luteolina este cunoscută ca antioxidant, micşorează formarea şi secreţia citochinelor proinflamatoare (IL-1beta, IL-4, IL-6, IL-13, TNF-alfa), creşte activitatea promotorului genei nitroxidsintetazei endoteliale, participă în metabolismul glucidic. Apigenina manifestă efect antioxidant, antiinflamator (micşorează formarea şi secreţia citochinelor proinflamatoare (IL-1beta, IL-4, IL-6, IL-13, TNF-alfa)), antitumoral şi hipouremic (reduce formarea acidului uric). Hesperidina posedă efect antioxidant, antiinflamator şi antiseptic, micşorează colestaza, reduce tensiunea arterială. Cvercetina poate exercita acţiune antiinflamatoare (diminuiază eliberarea histaminei, inhibă lipooxigenaza), antioxidantă şi poate inhiba citocromul 3A4 (cu influenţa asupra metabolismului altor medicamente). Secviterpenlactonul produce vasodilataţie renală şi creşte filtraţia glomerulară ceea ce contribuie la realizarea efectului nefroprotector şi diuretic moderat (Громова О.А., Торшин И.Ю., 2009).

Efectul antioxidant al hofitolului este determinat de flavonoizi şi derivaţii acidului cafeic şi se manifestă prin: creşterea sintezei grupelor tiolice, inclusiv glutationului; cuplarea radicalilor liberi; micşorarea oxidării VLDL (Мехтиев С.Н. и др., 2008, Чернега Н.В. и др., 2009, Громова О.А., Торшин И.Ю., 2009). În studii *in vitro* pe cultura de celule s-a constatat capacitatea extractului de anghinară de a reduce nivelul prostaglandinei $E_2$, marker al stresului oxidativ indus prin peroxidul de hidrogen, dovadă a acţiunii antiradicalice (Menghini L.et al., 2010).

Extractul de anghinară (25-100 μg/ml) timp de 24 ore la preincubarea în cultura celulelor endoteliale ombilicale umane a preîntâmpinat generarea speciilor reactive ale oxigenului induse de lipopolizaharide şi LDL oxidate, ceea ce a permis de a estima preparatul ca un agent endotelioprotector (Juzyszyn Z.et al., 2008).

Extratul hidric şi alcoolic de anghinară *in vitro* a micşorat producerea bazală şi stimulată de specii reactive ale oxigenului în celulele endoteliale şi monocite într-o manieră dozo-dependentă. Analiza rezultatelor obţinute a permis de a conchide că extractul de anghinară manifestă proprietăţi protective faţă de stresul oxidativ indus de mediatorii inflamaţiei (TNF-alfa, Lipopolizaharide) şi LDL-oxidare (Zapolscha-Downar D.et al., 2002).

Efectul coleretic este determinat de acizii cafeici prin amplificarea folosirii colesterolului în sinteza acizilor biliari şi micşorarea secreţiei intrahepatice a colesterolului cu normalizarea metabolismului lipidic (Мехтиев С.Н. и др., 2008, Громова О.А., Торшин И.Ю., 2009).

Efectul hepatoprotector este determinat preponderent de flavonoizi care contribuie la: stabilizarea membranei hepatocitelor; blocarea transportului toxinelor; refacerea depourilor de glutation; stimularea sintezei proteinelor şi fosfolipidelor; reducerea formării şi acţiunii toxice a acetaldehidei cu accelerarea eliminării produselor toxice (schema 1.6). Este importantă şi acţiunea antioxidantă a compuşilor săi (Широкова Е.Н. и др., 2004, Беляева Н.М. и др., 2004, Лоранская И.Д. и др., 2005, Мехтиев С.Н. и др., 2008, Громова О.А., Торшин И.Ю., 2009).

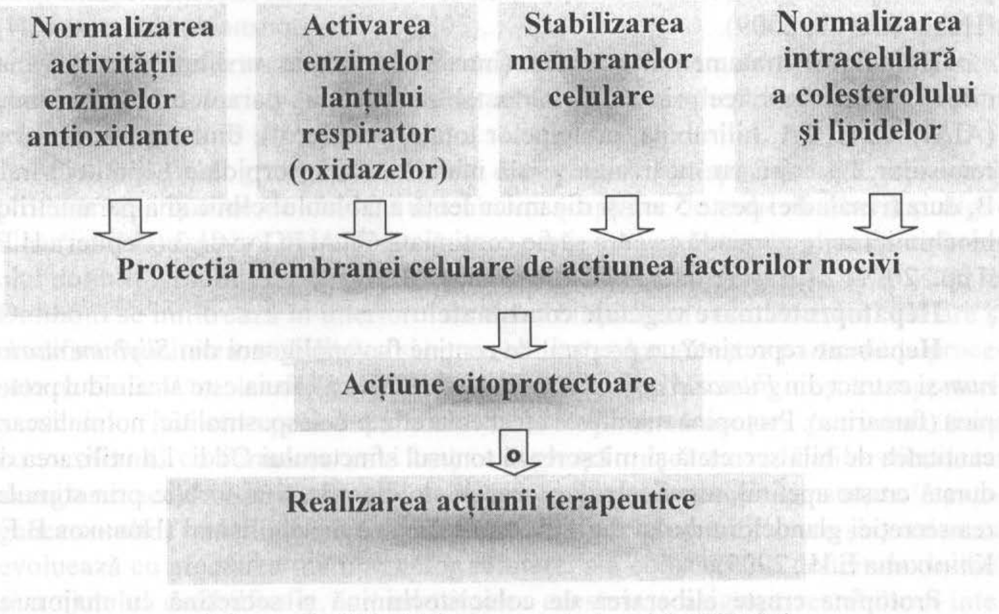
La modelarea hepatitei toxice acute prin $CCl_4$ peste 24 ore s-a dezvoltat sindromul citolitic (creşterea AlAT, AsAT), necroza hepatică şi instalarea unui stres oxidativ (creşterea DAM şi CD, micşorarea acidului ascorbic şi GSH în ficat, micşorarea GST). Extractul de anghinară (1,5 g/kg/zi) în calitate de pretratament a redus activitatea transaminazelor, nivelul DAM şi CD în ficat, a crescut conţinutul GSH şi activitatea GST în ficat cu ameliorarea tabloului histologic. Astfel, s-a constatat că preparatul poate fi folosit pentru reducerea hepatotoxicităţii induse de stresul oxidativ (Mehmetcich G.et al., 2008).

Efectul hipolipemiant este asigurat prin: micşorarea biosintezei intrahepatice a colesterolului, posibil, datorită inhibării specifice a hidroxi-metil-glutaril CoA-reductazei, precum şi acţiunii coleretice. Unele studii ale medicinei bazate pe dovezi au demonstrat modificarea spectrului lipidic cu reducerea colesterolului total la utilizarea extractului de anghinară, inclusiv hofitol, în doze de 1200-1800 mg timp de 6-12 săptămâni (Широкова Е.Н. и др., 2004, Лоранская И.Д. и др., 2005, Мехтиев С.Н. и др., 2008, Громова О.А., Торшин И.Ю., 2009). În condiţii experimentale, la şobolanii cu hipercolesterolemie, extractul de anghinară a contribuit la micşorarea nivelului colesterolului şi trigliceridelor în ser, dialdehidei malonice şi conjugaţilor dienici cu creşterea activităţii antioxidante totale a plasmei. Datele obţinute au permis de a folosi preparatul pentru prevenirea statutului prooxidant al LDL+VLDL şi micşorarea conţinutului colesterolului şi trigliceridelor (CHuschu-CHiraz Z.et al., 2010).

Hipercolesterolemia experimentală s-a manifestat prin dislipidemie (majorarea colesterolului şi trigliceridelor în ser şi ficat) şi stres oxidativ (creşterea dialdehidei malonice, conjugaţilor dienici în ficat, micşorarea tocoferolilor şi glutationperoxidazei în ficat fără modificări ale SOD, GR, GSH şi acidului ascorbic). Tratamentul animalelor cu extract de anghinară a contribuit la reducerea nivelului colesterolului şi trigliceridelor în ser, dialdehidei malonice şi conjugaţilor dienici în ficat cu creşterea tocoferolilor şi glutationperoxidazei în ficat. Rezultatele obţinute denotă diminuarea stării prooxidante indusă de lipidele serice şi hipercolesterolemie (Kucukgergin C et al., 2010).

Extractul de anghinară, în calitate de remediu hipouremic, se utiliza în tratamentul hiperuricemiei şi gutei. Studiile *in vitro* au demonstrat că extractul de anghinară la concentraţia de 100 μg/ml a inhibat minimal xantinoxidaza, iar derivaţii acidului cafeic şi luteolia au manifestat un efect mai marcat. Însă studiile *in vivo* nu au confirmat efectul hipouremic după administrarea internă a preparatului (Sarawech S.et al., 2008).

Tratamentul complex cu hofitol al bolnavilor cu hepatită alcoolică acută a demonstrat o evoluţie benefică a tabloului clinic, sindromului citolitic (AsAT, AlAT, GGTP), colestatic (FA, bilirubinei) cu diminuarea nivelului produselor azotate (hipoazotemie) şi creşterea funcţionalităţii rinichilor cu micşorarea frecvenţei


Normalizarea activităţii enzimelor antioxidante
Activarea enzimelor lanţului respirator (oxidazelor)
Stabilizarea membranelor celulare
Normalizarea intracelulară a colesterolului şi lipidelor
Protecţia membranei celulare de acţiunea factorilor nocivi
Acţiune citoprotectoare
o
Realizarea acţiunii terapeutice

**Schema 2.6 Efectul hepatoprotector al hofitolului.**

complicaţiilor şi decesului (Мехтиев С.Н. и др., 2008). Includerea hofitolului în tratamentul complex al pacienţilor cu hepatită alcoolică cronică a contribuit la ameliorarea simptomelor clinice şi parametrilor de laborator (AlAT, AsAT, GGTP, bilirubinei) ce confirmă efectul hepatoprotector şi antioxidant (Лоранская И.Д. и др., 2005).

Utilizarea hofitolului timp de 4 săptămâni în tratamentul pacienţilor cu steatoză hepatică şi steatohepatită non-alcoolică a determinat abolirea acuzelor şi simptomelor obiective cu normalizarea activităţii transaminazelor, fosfatazei alcaline şi nivelului bilirubinei (Григорьев Л.Я., 2003, Широкова Е.Н. и др., 2004).

Hofitolul s-a dovedit efectiv la vârstnici cu maladii difuze ale ficatului prin ameliorarea steatozei, reducerea activităţii enzimelor hepatice (AsAT, AlAT, GGTP) şi nivelului bilirubunei, fără a influenţa conţinutul proteinelor totale, albuminelor şi gama-globuminelor (Громова О.А., Торшин И.Ю., 2009). Preparatul a manifestat efect hepatoprotector în gestozele la gravide.

Efecte benefice ale hofitolului s-au demonstrat în hepatitele virale A acute, îndeosebi însoţite de sindromul de colestază şi/sau dischineziile căilor biliare. În acelaşi timp, la bolnavii cu hepatite virale cronice B, C şi B+C s-a relevat o dinamică pozitivă a sindromului citolitic, colestatic (de tip hipochinetic) şi a inflamaţiei mezenchimale. Datele obţinute au permis de a recomanda hofitolul în tratamentul complex al heatitelor cronice de diferită geneză şi cirozei hepatice compensate pe fundal de terapie antivirală (Беляева Н.М. и др., 2004).

Extractul de anghinară în doza de 3200 mg/zi timp de 12 săptămâni la pacienţii cu hepatită virală C cronică a micşorat semnificativ simptomele subiective deja peste 4 săptămâni, dar nu a influenţat esenţial activitatea AlAT şi încărcătura virală (Huber R.et al., 2009).

Hofitolul în tratamentul complex (interferonoterapia, ursohol, carsil) a manifestat efecte benefice prin ameliorarea tabloului clinic, parametrilor biochimici (AlAT, AsAT, FA, bilirubina, proteinelor totale, colesterol), dinamica viremiei şi remisiilor. La copii cu încărcarea virală mare, evoluţie torpidă a hepatitei virale B, durata maladiei peste 5 ani şi dinamica lentă a tabloului clinic şi a parametrilor biochimici se recomandă ca cura să fie continuată 6 luni în loc de 3 (Чернега Н.В. и др., 2009)

**Hepatoprotectoare vegetale combinate**

**Hepabene** reprezintă un preparat ce conţine flavonolignani din *Silybum marianum* şi extract din *Fumaria officinalis*, substanţa activă a căruia este alcaloidul protopina (fumarina). Protopina manifestă efect coleretic şi colespasmolitic, normalizează cantitatea de bilă secretată şi micşorează tonusul sfincterului Oddi. La utilizarea de durată creşte apetitul, ameliorează procesele de digestie şi absorbţie prin stimularea secreţiei glandelor tubului digestiv, normalizează metabolismul (Новиков В.Е., Климкина Е.И., 2005).

Protopina creşte eliberarea de colecistochinină şi secretină cu majorarea secreţiei de bicarbonat şi apă de către epiteliul ducturilor biliare, contribuie la contracţia vezicii biliare şi relaxarea sfincterului Oddi, fapt ce ameliorează drenajul bilei, reduce staza biliară şi formarea calculilor. Prin mecanismul feedback negativ micşorează absorbţia colesterolului în intestin, sinteza în ficat şi secreţia în bilă ceea ce contribuie la diminuarea litogenităţii bilei (Новиков В.Е., Климкина Е.И., 2005).

Efetul hepatoprotector al protopinei se explică prin micşorarea efortului asupra ficatului prin: ameliorarea eliminării bilei, iar ca consecinţă a circulaţiei hepatice, reducerea procesului inflamator; îmbunătăţirea stării funcţionale a ficatului. În steatoza hepatică creşte viteza excreţiei trigliceridelor şi lipoliza lor, includerea în VLDL şi eliminarea în sânge.

Hepabene se recomandă în maladiile hepato-biliare – de la cele funcţionale până la hepatite cronice. Datorită influenţei asupra sistemului biliar, preparatul este binevenit în dischineziile căilor biliare de tip hipochinetic şi hipertonusul sfincterului Oddi, steatoza hepatică, hepatite cronice (Новиков В.Е., Климкина Е.И., 2005).

**LIV 52** este un preparat vegetal combinat ce manifestă efect hepatoprotector prin acţiune antioxidantă, detoxicantă, membranostabilizatoare, coleretică şi colecinetică, antiinflamatoare, metabolică şi diuretică. Acţiunea membranostabilizatoare se datorează stimulării sintezei proteinelor şi fosfolipidelor, normalizării activităţii Na/CH-ATP-azei, iar cea antioxidantă prin creşterea nivelului endogen al tocoferolilor, glutationului şi altor antioxidanţi. Liv 52 stimulează citocromul P-450 şi acetaldehiddehidrogenaza contribuind la metabolizarea alcoolului şi micşorarea toxicităţii lui. Acţiunea coleretică şi colecinetică determină reducerea litogenităţii bilei, nivelului colesterolului, lipoproteinelor şi trigliceridelor în ser (Новиков В.Е., Климкина Е.И., 2005).

Preparatul este recomandat în dischinezia căilor biliare de tip hipoton, pentru profilaxia hepatotoxicităţii preparatelor antituberculoase, hepatitele toxice, hepatitele cronice virale B şi C etc.

**Prenolii**, analogi vegetali ai lipidei endogene de transport dolihol, reprezintă produse izoprenoide de rând cu ubichinona (captator de radicali liberi) şi digoxina (inhibitor al Na$^{+}$CH$^{+}$ATP-azei), care participă la reacţia de glicolizare în ciclul dolihilfosfat în timpul sintezei glicoproteidelor (Лаптева Е.Н. и др., 2007). Doliholii se infiltrează în interiorul stratului bilipidic al membranelor celulare şi modifică fluiditatea, stabilitatea şi permeabilitatea lor. Aceştea participă la procesele de fosforilare, iar doliholii fosfataţi sunt reglatorii fiziologici şi transportorii particulelor hidrofile prin membrane. Se presupune că aceştea pot interacţiona cu tocoferolii cu formarea unui lanţ ce reglează mişcarea radicalilor liberi, iar dereglarea acestuia poate fi implicat în procesele de destrucţie constatate în patogeneza multor maladii, inclusiv a ficatului. În diferite maladii acute şi cronice, ce evoluează cu afectarea membranelor celulare, s-a constatat un deficit de dolihol şi a ciclului dolihilfosfat, iar substituirea acestuia a asigurat restabilirea integrităţii şi stabilităţii membranelor, precum şi sinteza proteinelor. Cele relatate au servit drept bază pentru elaborarea preparatului „Ropren", un concentrat de poliprenoli obţinuţi din pin (*Pinus sylvestris*) şi brad (*Picea abies*). Investigaţiile au relevat că preparatul în cauză manifestă proprietăţi imunomodulatoare ce pot fi folosite nu numai în tratamentul maladiilor infecţioase, alergice şi autoimune, ci şi în cele hepatice.

Roprenul manifestă efect protector la şobolanii cu hepatită experimentală indusă prin fenacetină şi dicloretan, relevat prin normalizarea activităţii transaminazelor, fosfatazei alcaline şi acide, lactatdehidrogenazei, conţinutului ceruloplasminei, grupelor tiolice, glucozei, proteinelor totale, lipidelor totale şi colesterolului, bilirubinei totale în sânge şi glicogenului, glutationului redus, citocromului P – 450 şi P5, colinesterazei în ficat, precum şi prin diminuarea dereglărilor morfologice (infiltrarea lipidică, vacuolizarea hepatocitelor, distrofia proteică, edemul celulelor). Preparatul a manifestat o activitate hepatoprotectoare mai intensă ca esenţiale şi legalonul prin atenuarea sindromului de citoliză, colestază, dereglărilor metabolice şi amplificarea activităţii funcţionale şi dezintoxicante a ficatului. (Лаптева Е.Н. и др., 2007). Autorii consideră că roprenul exercită acţiune membranostabilizatoare şi antioxidantă, intensifică funcţia sintetică şi antitoxică, contribuie la reglarea metabolismului lipidic, proteic şi glucidic.

**Hepatoprotectoarele derivaţi de aminoacizi**

În sânge se conţine o cantitatea oarecare de aminoacizi liberi. O parte din ei sunt de origine exogenă (pătrund din tubul digestiv) şi alta endogenă (scindarea proteinelor). Cantitatea lor nu este mare deoarece, ajungând în sânge, sunt rapid captaţi de celulele ţesuturilor pentru sinteza proteinelor şi alţi compuşi azotaţi. Menţinerea echilibrului aminoacizilor în sânge este una din funcţiile importante ale ficatului. În cazul patologiei ficatului se poate deregla conţinutul aminoacizilor sau modifica repartizarea unora din ei cu dezvoltarea unor stări patologice (de exemplu, boala Wilsson-Konovalov).

Din derivaţii de aminoacizi fac parte ademetionina, ornitin-aspartatul, citrargina, glutargina, hepasolul etc.

**Ademetionina (S-adenozil-L-metionina, heptral etc.)** este un derivat al metioninei ce conţine sulf şi care se formează în ficat din metionină şi adenozină (până la 8 g/zi), prezent practic în toate organele şi lichidele organismului, cu prevalenţă în ficat şi creier. Ademetionina se sintetizează în ficat sub acţiunea S-adenozil-metionin-sintetazei şi metionin-adenozil-transferazei şi joacă un rol important în procesele metabolice, fiind implicată în trei căi principale: transmetilare, transsulfatare şi aminopropilare. Activitatea ademetioninei în aceste cazuri este determinată de sarcina pozitivă la atomul de sulf din care cauză uşor se rup legăturile dintre carbon şi sulf (Губергриц Н.Б., 2004, Бабак О.Я., 2005, Новиков В.Е., Климкина Е.И., 2005, Ивашкин В.Т., Буеверов А.О., 2009, Подымова С.Д., 2010).

Una din reacţiile importante la care participă ademetionina este transmetilarea. În această reacţie preparatul cedează grupele metil ($-CH_3$) cu formarea de compuşi metilaţi necesari pentru sinteza fosfolipidelor, proteinelor, acizilor nucleici, hormonilor, neuromediatorilor. Un moment esenţial în realizarea efectului membranoprotector, inclusiv şi al hepatocitelor, îl are sinteza fosfolipidelor şi, în primul rând, al fosfatidilcolinei. În acest caz fosfolipidele asigură fluiditatea şi polaritatea membranelor. E bine cunoscut că circa 2/3 din membranele celulare, iar în cele mitocondriale 92%, sunt constituite din fosfolipide, iar acestea 80-90% din fosfatidilcolină. Astfel, metilarea fosfolipidelor cu participarea ademetioninei creşte polaritatea membranelor cu trecerea incontinuu a fosfolipidelor din stratul intern în cel superficial cu modificarea fluidităţii. În afară de funcţiile structurale, fosfolipidele membranare participă în procesele de transport al moleculelor, multiplicarea şi diferenţierea celulelor, stimularea activităţii diferitor sisteme enzimatice. Polaritatea şi fluiditatea membranelor este importantă şi pentru sinteza bilei. Micşorarea vâscozităţii membranelor, din cauza depunerii în ficat a colesterolului, în cazul colestazei intrahepatice, provocată inclusiv şi de diferite hepatotoxice, contribuie la dereglarea funcţionării sistemelor membranare de transport. De exemplu, etanolul şi alte hepatotoxice afectează membranele hepatocitelor (citoplasmatice şi mitocondriale) cu dereglarea metabolismului intracelular şi necroza lor. Tratamentul în aceste situaţii cu ademetionină contribuie la normalizarea fluidităţii şi permeabilităţii membranelor celulare, creşterea activităţii $Na^+CH^+$-ATP-azei şi potenţialului energetic al celulei cu intensificarea captării componenţilor bilei din sânge, transportul lor în celulă şi eliminarea în canalicule (CHalhan S.et al., 2011, Губергриц Н.Б., 2004, Бабак О.Я., 2005, Новиков В.Е., Климкина Е.И., 2005, Ивашкин В.Т., Буеверов А.О., 2009, Подымова С.Д., 2010).

Ademetionina, în procesele de transsulfurare, formează un şir de produşi intermediari şi finali ce determină efecte nedorite şi benefice asupra ficatului. Astfel, în urma cedării grupei metil se formează S-adenozil-homocisteina, care ulterior cedează adenozina cu formarea homocisteinei, iar aceasta sub acţiunea cistatoinsintetazei eliberează serina cu formarea cistationinei. Ultima este un predecesor important al cisteinei, produs responsabil de formarea GSH, taurinei, sulfaţilor şi coenzimei A (Губергриц Н.Б., 2004, Бабак О.Я., 2005, Подымова С.Д., 2010). Dereglările la fiecare etapă a acestei cascade poate determina un şir de modificări patologice, responsabile de afectarea ficatului. Astfel, formarea în exces sau dereglarea trecerii în homocisteină a S-adenozil-homocisteinei contribuie la acumularea acesteia care reduce procesele de metilare cu creşterea expresiei genelor, acumularea de lipide şi dezvoltarea steatozei hepatice. În acelaşi timp, majorarea conţinutului de S-adenozil-homocisteină poate produce micşorarea nivelului S-adenozil-metioninei în mitocondrii cu diminuarea concentraţiei GSH şi dereglarea funcţiilor lor. La rândul său reducerea nivelului GSH în mitocondrii va majora conţinutul SRO cu dezvoltarea procesului inflamator şi degenerarea hepatocitelor. Pe de altă parte, disfuncţia mitocondrială va contribui de asemenea la creşterea nivelului lipidelor în ficat cu instalarea steatozei (schema 2.7).

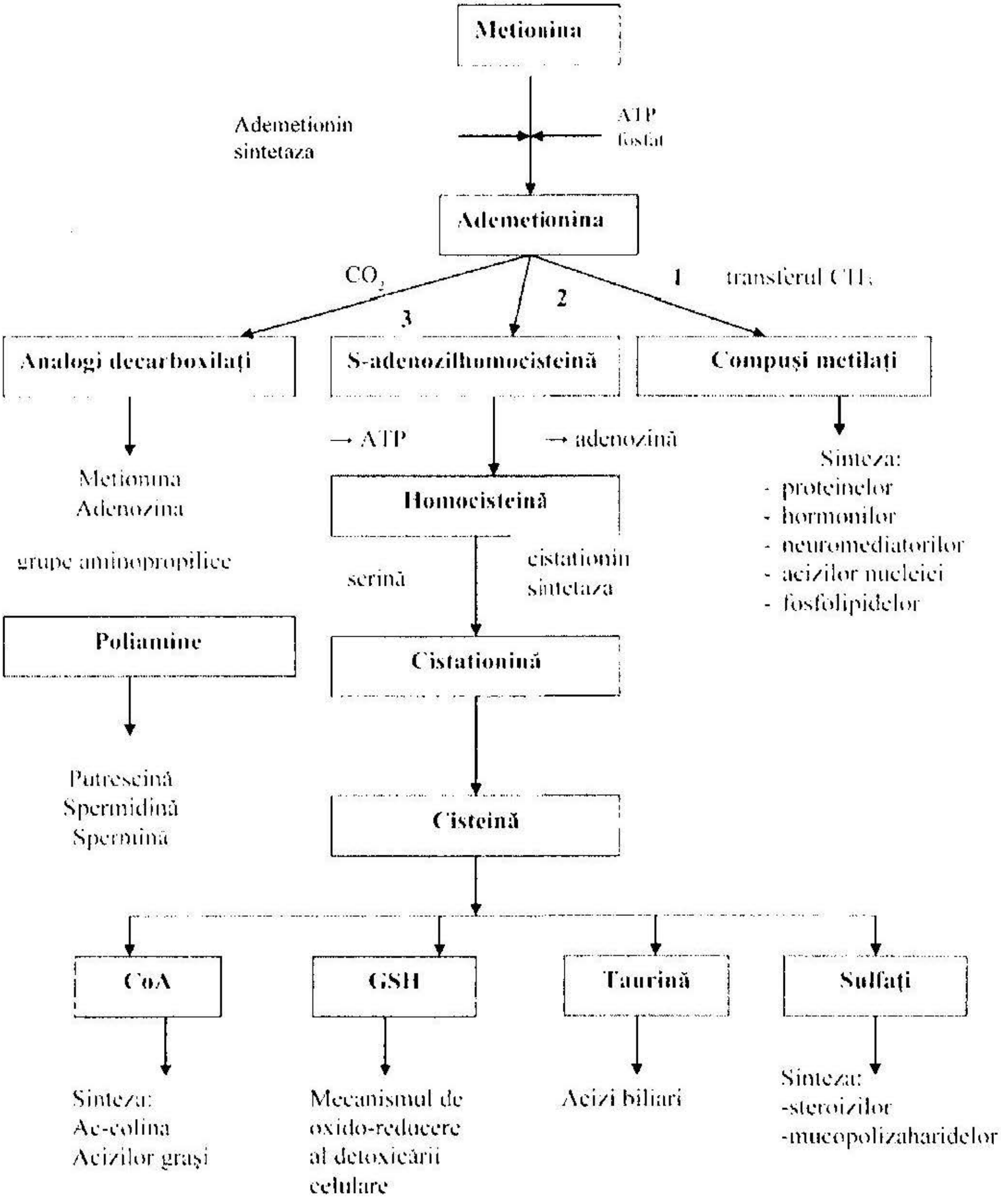
O altă consecinţă importantă a perturbărilor proceselor de transsulfurare este deficitul de glutation (GSH) – unul din cei mai esenţiali antioxidanţi intracelulari. Deficitul GSH, caracteristic pentru majoritatea maladiilor cronice ale ficatului, este responsabil mai întâi de toate de micşorarea rezistenţei hepatocitelor la acţiunea lezantă a radicalilor liberi ce se formează permanent în procesul de metabolizare a substanţelor exo- şi endogene (Буеверов А.О., 2001). Stresul oxidativ este un mecanism patogenetic comun ce contribuie la iniţierea şi progresia perturbărilor hepatice în variate maladii ale ficatului (Medina J., Moreno-Otero R., 2005). Formarea SRO şi speciilor reactive ale azotului (SRN) la depăşirea capacităţii de neutralizare a GSH duce la lezarea hepatocitelor, care după principiul feedbeack contribuie la inactivarea ademetionin-sintetazei cu dereglarea şi mai accentuată a proceselor de transsulfurare şi a deficitului GSH (Губергриц Н.Б., 2004, Бабак О.Я., 2005, Новиков В.Е., Климкина Е.И., 2005, Подымова С.Д., 2010).

Un rol important în funcţia de detoxicare a ficatului, în afară de GSH, îl au şi alte produse ale reacţiei de transsulfurare precum taurina, cisteina, sulfaţii şi coenzima A. Astfel, taurina se utilizează în procesul de conjugare a acizilor biliari cu creşterea solubilităţii acestora şi micşorarea hepatotoxicităţii lor. O acţiune similară manifestă şi sulfaţii, substraturi ale reacţiei de sulfurare. Formarea sulfaţilor acizilor biliari protejează membranele celulare de acţiunea solubilizantă a acizilor biliari neconjugaţi, care se acumulează în caz de colestază intrahepatică (Губергриц Н.Б., 2004, Бабак О.Я., 2005, Новиков В.Е., Климкина Е.И., 2005, Подымова С.Д., 2010). Glutationul şi taurina se consideră responsabili de inactivarea substanţelor biologic active (Губергриц Н.Б., 2004, Бабак О.Я., 2005).

Reacţia de aminopropilare este implicată în procesul de transfer a acestei grupe la poliamine de tipul putrescinei, sperminei şi spermidinei, care joacă un rol importnat în structura ribozomilor. Poliaminele sunt implicate, de asemenea, în procesele de regenerare şi proliferare a hepatocitelor (Губергриц Н.Б., 2004, Новиков В.Е., Климкина Е.И., 2005, Бабак О.Я., 2005, Подымова С.Д., 2010). Transferul acestor grupe pe poliamine de tipul putrescină, spermină, spemidină este important pentru activitatea ribozomilor, iar putrescina stimulează proliferarea hepatocitelor după hepatectomia parţială.

Suplimentarea ademetioninei la fibroblastele normale ale epidermisului micşorează formarea colagenului fără a influenţa proliferarea şi viabilitatea celulelor, fapt ce confirmă acţiunea antifibrotică a preparatului.

Analiza datelor din literatură demonstrează că ademetionina manifestă proprietăţi anticolestatice, antioxidante, antihipoxante, membranostabilizatoare, citoprotectoare, detoxicante şi de ameliorare a funcţiei sintetice a ficatului (Губергриц Н.Б., 2004, Новиков В.Е., Климкина Е.И., 2005, Бабак О.Я., 2005, Ивашкин В.Т., Буеверов А.О., 2009, Подымова С.Д., 2010). Aceste efecte confirmă faptul că ademetionina este un preparat patogenetic ce poate fi


Metionina
Ademetionin sintetaza
ATP
fosfat
Ademetionina
$CO_2$
1 transferul $CH_3$
2
3
Analogi decarboxilaţi
S-adenozilhomocisteină
Compuşi metilaţi
Metionina
Adenozina
grupe aminopropilice
→ ATP
→ adenozină
Homocisteină
serină
cistationin sintetaza
Sinteza:
- proteinelor
- hormonilor
- neuromediatorilor
- acizilor nucleici
- fosfolipidelor
Poliamine
Cistationină
Putresceină
Spermidină
Spermină
Cisteină
CoA
GSH
Taurină
Sulfaţi
Sinteza:
Ac-colina
Acizilor graşi
Mecanismul de oxido-reducere al detoxicării celulare
Acizi biliari
Sinteza:
-steroizilor
-mucopolizaharidelor

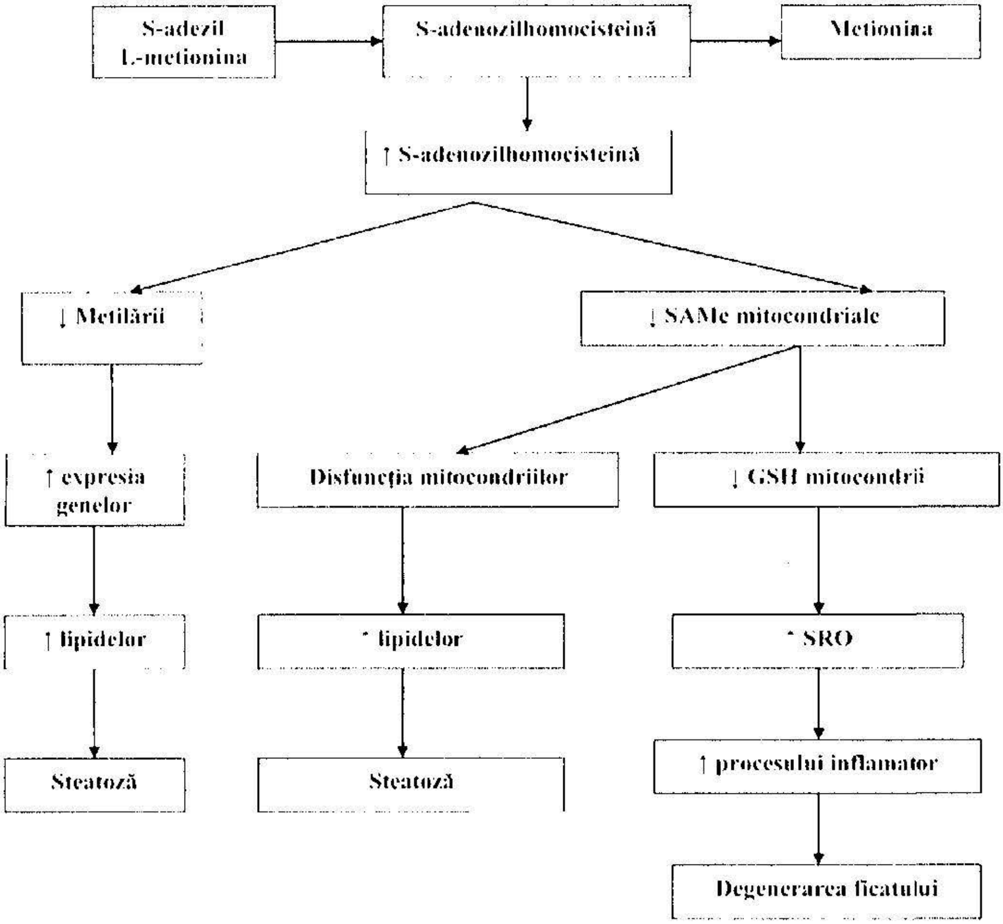
**Schema 2.7 Principalele căi metabolice cu participarea ademetioninei: 1 – transmetilare; 2 – transsulfurare; 3 – aminopropilare**

utilzat în tratamentul maladiilor hepatice de diferită origine: alcoolică, toxică, medicamentoasă, virală.

Una din indicaţiile de bază ale ademetioninei se consideră colestaza intrahepatică (hepatocelulară şi/sau canaliculară) ce se dezvoltă în afecţiunile hepatice virale, alcoolice, medicamentoase şi toxice, insuficienţa cardiacă cronică congestivă, maladiile metabolice ale ficatului (colestaza intrahepatică recurentă benignă, colestaza la gravide, mucoviscidoza etc.). În aceste cazuri se constată diminuarea activităţii S-adenozil-metil-sintetazei cu dereglarea sintezei ademetioninei (Губергриц Н.Б., 2004, Бабак О.Я., 2005, Новиков В.Е., Климкина Е.И., 2005, Ивашкин В.Т., Буеверов А.О., 2009, Подымова С.Д., 2010). Autorii consideră că colestaza este cauzată de următoarele mecanisme: micşorarea fluidităţii şi permeabilităţii membranei bazolaterale şi/sau canaliculare a hepatocitelor (hepatitele alcoolice, medicamentoase, colestaza la gravide); blocada transportorilor membranari ($Na^+Cl^-$-ATP-aza etc.) în cazul acţiunii toxicelor (medicamente, endotoxine etc.); dereglarea integrităţii citoscheletului, inclusiv a canaliculelor cu blocada transportului intracelular şi canalicular al componenţilor bilei (afecţiunile acute şi cronice ale ficatului, inclusiv ciroza hepatică, colestaza intrahepatică benignă, endotoxemia, anticoncepţionalele orale etc.). În aceste situaţii, efectele ademetioninei (anticolestatic, antioxidant, membranostabilizator şi citoprotector) sunt esenţiale în acţiunea patogenetică a preparatului. Eficacitatea ademetioninei a fost confirmată în mai multe studii clinice multicentrice relevate prin ameliorarea simptomelor clinice şi a parametrilor de laborator (micşorarea nivelului bilirubinei totale şi celei conjugate, transaminazelor, GGTP şi FA).

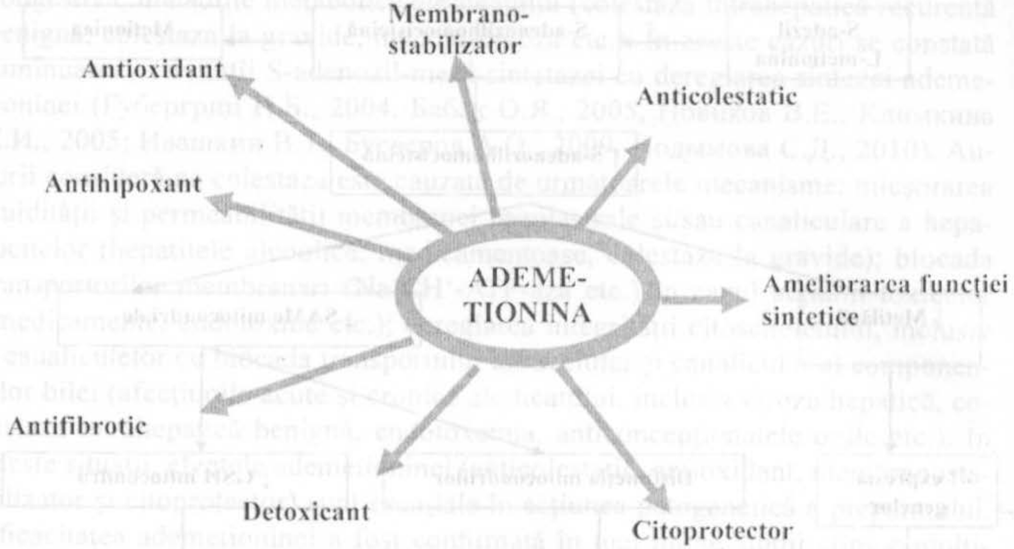
Una din indicaţiile de bază ale ademetioninei se consideră colestaza intrahepatică (hepatocelulară şi/sau canaliculară) ce se dezvoltă în afecţiunile hepatice virale, alcoolice, medicamentoase şi toxice, insuficienţa cardiacă cronică congestivă, maladiile metabolice ale ficatului (colestaza intrahepatică recurentă benignă, colestaza la gravide, mucoviscidoza etc.). În aceste cazuri se constată diminuarea activităţii S-adenozil-metil-sintetazei cu dereglarea sintezei ademetioninei (Губергриц Н.Б., 2004, Бабак О.Я., 2005, Новиков В.Е., Климкина Е.И., 2005, Ивашкин В.Т., Буеверов А.О., 2009, Подымова С.Д., 2010). Autorii consideră că colestaza este cauzată de următoarele mecanisme: micşorarea fluidităţii şi permeabilităţii membranei bazolaterale şi/sau canaliculare a hepatocitelor (hepatitele alcoolice, medicamentoase, colestaza la gravide); blocada transportorilor membranari ($Na^+Cl^-$-ATP-aza etc.) în cazul acţiunii toxicelor (medicamente, endotoxine etc.); dereglarea integrităţii citoscheletului, inclusiv a canaliculelor cu blocada transportului intracelular şi canalicular al componenţilor bilei (afecţiunile acute şi cronice ale ficatului, inclusiv ciroza hepatică, colestaza intrahepatică benignă, endotoxemia, anticoncepţionalele orale etc.).

În aceste situaţii, efectele ademetioninei (anticolestatic, antioxidant, membranostabilizator şi citoprotector) sunt esenţiale în acţiunea patogenetică a preparatului. Eficacitatea ademetioninei a fost confirmată în mai multe studii clinice multicentrice relevate prin ameliorarea simptomelor clinice şi a parametrilor de laborator (micşorarea nivelului bilirubinei totale şi celei conjugate, transaminazelor, GGTP şi FA).


S-adezil L-metionina
S-adenozilhomocisteină
Metionina
↑ S-adenozilhomocisteină
↓ Metilării
↓ SAMe mitocondriale
↑ expresia genelor
Disfuncţia mitocondriilor
↓ GSH mitocondrii
↑ lipidelor
↑ lipidelor
↑ SRO
Steatoză
Steatoză
↑ procesului inflamator
Degenerarea ficatului

**Schema 2.8 Dezvoltarea steatozei şi degenerării ficatului la dereglarea metabolismului S-adenozilhomocisteinei**
(după Matthews R.P.et.al., 2009).

O problemă aparte reprezintă hepatitele virale, inclusiv asociate cu sindromul de colestază. S-a demonstrat că terapia standard a hepatitei virale C (HVC) cu interferon alfa pegilat + ribavirină este efectivă la 50% din pacienţi (Duong F.H. et. Al., 2006 Filipowicz M.et.al., 2010). S-a constatat că expresia proteinelor HVC duce la o micşorare a semnalului Jak-STAT datorită unei inhibiţii a metilării STAT1, care devine mai puţin activă datorită limitării şi inactivării de inhibitorul său, proteina inhibitoare de activare a STAT1. În aceste condiţii s-a stabilit că tratarea culturilor de celule cu S-adenozil-metionină (SAMe) restabileşte metilarea STAT1 şi îmbunătăţeşte semnalul interferonului alfa cu creşterea efectului antiviral. S-a mai constatat că SAMe inhibă activitatea NS3 helicazei şi replicarea repliconului subgenomic al HVC. Suplimentarea betainei a amplificat efectul SAMe prin asigurarea reciclării acesteia din S-adenozil-L-homocisteină, un metabolic toxic. Astfel, s-a



Schema 2.9 Efectele ademetioninei

estimat că suplimentarea SAMe şi betainei la terapia standard va creşte eficacitatea tratamentului antiviral, inclusiv la pacienţii ce nu răspund la asocierea interferon alfa+ribavirină (Duong F.H.et.al., 2006, Filipowicz M.et.al., 2010).

Stresul oxidativ se consideră un mecanism patogenetic comun ce contribuie la iniţierea şi progresarea perturbărilor hepatice în variate maladii ale ficatului (Medina J., Moreno-Otero R., 2005, Gogolauri M.I., Antelava N.A., 2005, Moreno-Otero R., Trapero-Marugan M., 2010, Kalhan S.et.al., 2011,). În acest caz excesul de specii reactive ale oxigenului (SRO) şi ale azotului (SRN) şi/sau deficitul moleculelor antioxidanţilor pot fi responsabili de afectarea celulelor ficatului cu dezvoltarea proceselor patologice consecutive, inclusiv: boala alcoolică a ficatului (BAF), hepatitele virale cronice, hepatitele toxice, maladiile autoimune ale ficatului, steatohepatita non-alcoolică (SHNA). Din acest punct de vedere antioxidanţii, inclusiv ademetionina, silimarina, tocoferolii, polienilfosfatidilcolina etc., reprezintă o strategie terapeutică logică, îndeosebi în asociere cu terapia antiinflamatoare şi antivirală.

În cazul hepatitei toxice induse prin $CCl_4$ s-a constatat dereglarea funcţiei detoxicante a ficatului, micşorarea producerii de energie şi creşterea nivelului homocisteinei. Tratamentul animalelor cu ademetionină (heptral) a contribuit la creşterea conţinutului CYP 450, citocromului $b_5$, GSH, activităţii glutationtransferazei şi reducerea nivelului homocisteinei (Antelava N.A.et al., 2007). Gogolauri M.I. şi Antelava N.A. (2005) au depistat eficacitatea heptralului în afecţiunea hepatică provocată de $CCl_4$ relevată prin atenuarea sindromului de citoliză şi colestază prin diminuarea stresului oxidativ (reducerea activităţii sistemului oxidant şi majorarea celui antioxidant). În această situaţie, autorii au demonstrat o potenţiere a efectului ademetioninei şi reducere a efectelor nedorite (acumularea de homocisteină) la asocierea cu acidul folic.

Administrarea dozelor toxice de acetaminofen contribuie la micşorarea conţinutului de SAMe în ficat şi creşterea nivelului factorului de necroză tumorală (TNF-alfa), iar suplimentarea SAMe provoacă creşterea concentraţiei GSH şi micşorarea TNF-alfa. Situaţie similară s-a constatat şi în intoxicaţia cu alcool (Oz H. S.et al., 2008).

În studii experimentale şi clinice s-a demonstrat eficacitatea ademetioninei în afecţiunile hepatice provocate de paracetamol, $CCl_4$, D-galactozamină, ciclosproina A, intoxicaţia cu plumb, relevate prin ameliorarea manifestărilor clinice şi biochimice (Губергриц Н.Б., 2004).

Un interes deosebit prezintă utilizarea ademetioninei în stările patologice care preced dezvoltarea diferitor afecţiuni hepatice, dar, de regulă, nu sunt diagnosticate la timp. Printre acestea se numără steatoza hepatică sau infiltrarea lipidică a ficatului, factor patogenetic incipient în sindromul metabolic, steatoza hepatică non-alcoolică, boala alcoolică a ficatului, diabetul zaharat etc. (Wortham M.et al., 2008, Oz H.S. et al., 2008, Medina J., Moreno-Otero R., 2005, Matthews R.P..et al., 2009, Moreno-Otero R., Trapero-Marugan M., 2010, Kalhan S.et al., 2011).

S-a observat că la şoriceii db/db, dar nu la cei neliniari, cu o dietă deficitară în metionină şi colină se dezvolta steatoza hepatică urmată de steatohepatita non-alcoolică cu micşorarea nivelului SAMe în ficat şi dereglarea statutului citochinelor şi chemochinelor (Wortham M.et al., 2008). Autorii consideră că depleţia SAMe este un efect pleiotrop în homeostaza hepatică şi un mecanism comun în dezvoltarea afecţiunilor hepatice prin tioacetamidă, $CCl_4$ şi alcool şi poate fi un factor secundar în dezvoltarea SHNA. În acest caz, suplimentarea SAMe poate fi o ţintă pentru tratamentul pacienţilor susceptibili la SHNA şi poate fi substanţial în cazul când afecţiunea hepatică este deja în evoluţie.

Rolul metioninei în transformările metabolice pot avea o importnaţă deosebită în dezvoltarea şi progresarea SHNA (Oz H.S.et al., 2008, Matthews R.P.et al., 2009, Kalhan S.et al., 2011). Reieşind din faptul că metionina este un precursor al SAMe, cisteinei, GSH, deficitul unuia din substratul respectiv poate implica mecanisme patogenetice în steatoza hepatică cu consecinţele respective. Astfel, SAMe în calitate de donator al grupelor metil contribuie la sinteza fosfatidilcolinei, necesară pentru exportul VLDL şi trigliceridelor de la ficat. La subiecţii cu SHNA s-a constatat o micşorare a ratei de metilare a homocisteinei şi transmetilare a metioninei, o frecvenţă mai accentuată a insulinorezistenţei, precum şi o creştere mai importantă în ficat a TNF-alfa şi altor citochine proinflamatorii (Kalhan S.et al., 2011). Autorii presupun că stresul oxidativ creşte oxidarea acizilor graşi ceea ce duce la micşorarea activităţii metionin adenoziltransferazei cu reducerea ratei de transmetilare a metioninei în sinteza SAMe. Astfel, la pacienţii cu SHNA este perturbat metabolismul metioninei, ceea ce justifică terapia patogenetică prin ademetionină.

În studii experimentale şi clinice s-a constatat că activarea CYP2E1 este unul din factorii ce induc stresul oxidativ cu afectarea funcţiilor mitocondriilor şi dereglările metabolice caracteristice (Oz H.S. et al., 2008, Matthews R.P.et al., 2009). Autorii au depistat că metionina se oxidează uşor sub influenţa SRO cu dezvoltarea deficitului acesteia care duce la depleţia GSH şi micşorarea modificărilor oxidative ale componenţilor intracelulari (aminoacizi, lipide, acizi nucleici) contribuind la destrucţia intracelulară. Modelele experimentale cu infiltrare lipidică şi SHNA denotă o stare anormală a transmetilării şi transsulfurării hepatice cu deficienţa la şoricei a metionin adenoziltransferazei 1A (MAT1A), metilen-tetrahidrofolat reductazei (MTHFR) şi fosfatidiletanolamin N-metiltransferazei (PEMT (Oz H.S.et al., 2008). În acest caz deficitul de metionină şi colină s-a remarcat prin creşterea AlAT, AsAT în ser, reducerea nivelului GSH, SAMe şi majorarea expresiei genelor substanţelor inflamatoare (TNF-alfa, IL-6, IL-1beta, TGF-beta etc.) în ficat.

Oz H.S. şi coaut. (2008) au remarcat că steatoza şi SHNA acompaniază variate maladii sau situaţii precum: alimentarea parenterală, deficienţa proteică alimentară, afecţiuni metabolice congenitale, baypass-ul jujuno-ilenal, maladii intestinale cronice, intoxicaţii cronice. Acestea din urmă pot deregla metabolismul hepatic, inclusiv şi utilizarea metioninei în procesele de transmetilare, transsulfurare şi aminopropilare.

Boala alcoolică a ficatului constituie o cauză majoră a morbidităţii şi mortalităţii. Din aceste considerente, în studiile experimentale şi clinice s-a urmărit elaborarea unei strategii terapeutice adecvate. Astfel, la animale intoxicate cu alcool şi la pacienţii cu ciroză s-a constatat un metabolism anormal al metioninei cu micşorarea conţinutului SAMe şi GSH în ficat, precum şi o perturbare a catabolismului S-adenozil-homocisteinei şi homocisteinei urmat de hiperhomocisteinie (Lee T.D.et al., 2004, Bergheim I.et al., 2005, McClain C.et al., 2005). Autorii au depistat în ficat o expresie anormală a genelor implicate în metabolismul metioninei şi GSH, responsabile de diminuarea nivelului în ficat a metioninei, SAMe, cisteinei şi GSH. Concomitent s-a demonstrat că în aceste cazuri este crescut nivelul TNF-alfa, iar interacţiunile dintre homocisteină, S-adenozil-homocisteină şi TNF-alfa sunt responsabile de dezvoltarea BAF (McClain C.et al., 2005). În modelele experimentale s-a relevat o corelaţie dintre nivelul micşorat al SAMe şi cel crescut al TNF-alfa şi endotoxemiei (McClain C. et al., 2002, Bergheim I.et al., 2005 ). Autorii au remarcat că deficitul SAMe afectează raportul citochine proinflamatoare/citochine antiinflamatoare cu prevalarea primelor. Astfel, la şobolanii lipsiţi de metionină şi colină se dezvoltă un deficit al SAMe, iar administrarea de lipopolizaharide creşte nivelul TNF-alfa. Concomitent, la pacienţii cu hepatită alcoolică suplimentarea SAMe majora formarea de IL-10, citochină antiinflamatoare, care modula producerea TNF-alfa şi inhiba dezvoltarea fibrozei hepatice (McClain-C.et al., 2002).

Lieber C.S. (2004) a constatat că la pacienţii alcoolici este perturbat metabolismul metioninei în SAMe, iar suplimentarea ultimei reduce formarea cirozei, micşorează mortalitatea şi intensitatea stresului oxidativ în urma activării CYP 2E1 de alcool, cetone, acizi graşi. La rândul său, CYP 2E1 activează celulele Kupffer cu creşterea formării citochinelor proinflamatoare, inclusiv TNF-alfa. Pentoxifilina, inhibitorul TNF-alfa, micşorează evoluţia fenomenelor respective şi mortalitatea pacienţilor (Lieber C.S., 2004, Bergheim I et al., 2005, Бабак О.Я., 2005, Подымова С.Д., 2010).

În BAF s-a constatat că metabolismul alcoolului şi, în primul rând, al acetaldehidei este strâns legat de metabolismul SAMe (Губергриц Н.Б., 2004). Astfel, acetaldehida se cuplează cu cisteina şi/sau GSH cu reducerea nivelului acesteia şi creşterea toxicitatea radicalilor liberi şi intensificarea POL. Ademetionina poate restabili deficitul de GSH şi micşora astfel toxicitatea alcoolului. În studiile experimentale s-a demonstrat că administrarea ademetioninei pe fundalul intoxicaţiei cu alcool majora conţinutul GSH în citoplasmă şi mitocondrii, ceea ce denotă posibilitatea utilizării preparatului cu scop profilactic şi curativ. Concomitent s-a demonstrat efectul benefic al ademetioninei în prevenirea embriopatiilor alcoolice la embrionii cultivaţi în mediu cu alcool (Губергриц Н.Б., 2004).

Utilizarea ademetioninei în tratamentul maladiilor hepatice colestatice însoţite de procesul autoimun (ciroza biliară primară, colangita sclerozantă şi autoimună primară, colangita sclerozantă după transplantarea ficatului etc.) rămâne discutabilă (Губергриц Н.Б., 2004, Бабак О.Я., 2005, Подымова С.Д., 2010). În aceste cazuri s-a constatat dependenţa efectelor benefice de gradul de manifestare a maladiilor. Astfel, în stadiile iniţiale ale cirozei biliare primare tratamentul cu ademetionină se solda cu ameliorarea simptomelor clinice şi parametrilor de laborator ce caracterizează sindromul de citoliză şi colestază. În acelaşi timp, la pacienţii în stadiile mai avansate acţiunea benefică se constata după curele repetate cu ademetionină.

Administrarea ademetioninei s-a dovedit efectivă la gravide cu sindromul de colestază (Ивашкин В.Т., Буеверов А.О., 2009, Подымова С.Д., 2010). În acest caz se constata ameliorarea simptomelor clinice (pruritului etc.) şi parametrilor biochimici (nivelul bilirubinei conjugate şi acizilor biliari, activităţii fosfatazei alcaline şi transaminazelor) în funcţie de doză (eficacitatea se majora de la 200 la 800 mg parenteral şi 600-1800 mg intern) şi calea de administrare (efect mai rapid şi mai manifest la utilizarea parenterală).

În baza celor relatate putem conchide că ademetionina este un remediu patogenetic în tratamentul maladiilor însoţite de sindromul colestazei intrahepatice deoarece contribuie la restabilirea mecanismelor transportului bilei de la membrana bazolaterală a hepatocitului până la intestin cu ameliorarea tabloului clinic şi parametrilor de laborator. Eficacitatea tratamentului cu ademetionină va depinde de diagnosticarea precoce a sindromului colestazei cu elucidarea mecanismelor patogenetice şi elaborarea regimului adecvat de dozare şi utilizare.

**Ornitin-aspartatul** reprezintă o combinaţie a L-ornitinului şi L-aspartatului care la administrarea internă în intestin se scindează în componenţii respectivi ce se absorb prin mecanism activ cu participarea la schimbul de substanţe în hepatocite (Новиков В.Е., Климкина Е.И., 2005, Оковитый С.В., 2006, Ткач С.М., 2009, Полунина Т.Е., Маев И.В., 2010).

L-ornition-L-asparatul (Hepa-Merţ) controlează efectiv hiperamoniemia prin interacţiunea directă cu amoniacul ceea ce contribuie la detoxicarea lui în ficat prin stimularea sintezei dereglate a ureei şi glutaminei. Mecanismul de acţiune este determinat de includerea în calitate de substrat în ciclul ornitinic, precum şi prin stimularea activităţii enzimelor acestui ciclu.

Ornitinul stimulează în hepatocitele periportale carbomoilfosfatsintetaza I, enzima principală a ciclului ornitinic cu detoxicarea amoniacului şi sinteza ureei. Aspartatul în hepatocitele perivenoase, muşchi şi creier stimulează glutamatsintetaza cu inactivarea amoniacului. Astfel, ornitinul şi aspartatul se includ ca substraturi în ciclul de sinteză a ureei, iar aspartatul şi la etapa de sinteză a argininsuccinatului. Ca efect benefic al preparatului e necesar de menţionat inhibarea catabolismului proteinelor în muşchi, normalizarea raportului aminoacizilor în sânge şi acţiunea antioxidantă (Ильченко Л.Ю. и др., 2007, Бурков С.Г. и др., 2010, Волчкова Е.В. и др., 2010).

Ornitin-aspartatul manifestă efect benefic asupra ficatului şi prin intensificarea funcţiei sintetice, inclusiv de sinteză a proteinelor, prin creşterea aminoacizilor şi acizilor nucleici necesari (ornitin, asparat) care posedă efect anabolic. La majorarea nivelului ornitinului şi aspartatului creşte formarea de energie în ciclul Krebs, iar aspartatul micşorează dependenţa celulelor de asigurarea cu energie prin glicoliză şi o majorează prin acizii graşi din ficat. Preparatul de asemenea reduce nivelul lactatului şi necesitatea în oxigen prin intensificarea oxidării lui pe alte căi. Aspartatul măreşte permeabilitatea membranelor pentru potasiu şi magneziu cu stabilizarea şi creşterea rezistenţei lor la acţiunea factorilor nocivi, inclusiv a speciilor reactive ale oxigenului, ce asigură efectul antioxidant (Бурков С.Г. и др., 2010).

Studiile clinice au demonstrat eficacitatea ornitin-aspartatului în tratamentul complex al maladiilor difuze cronice ale ficatului (steatoza hepatică, hepatite cronice). În steatoza şi steatohepatita non-alcoolică preparatul a manifestat eficacitate în doze de 9 g/zi timp de 30 zile cu ameliorarea tabloului clinic şi parametrilor biochimici (Бурков С.Г. и др., 2010).

Preparatul Hepa-Merţ la utilizarea în tratamentul SHNA timp de 3 şi 6 luni a demonstrat capacitatea de a micşora indicele masei corporale, activitatea transaminazelor şi conţinutul colesterolului, trigliceridelor. Eficacitatea preparatului se consideră a fi determinată de menţinerea structurii şi funcţiilor mitocondriilor, respiraţiei tisulare şi normalizarea beta-oxidării acizilor graşi (Осипенко М.Ф. и др., 2010).

În studiile clinice randomizate la pacienţii cu encefalopatie hepatică eficacitatea ornitin-aspartatului oscila de la 40% în cazurile grave până la 70-100% în cele uşoare sau medii (Волчкова Е.В. и др., 2010).

În studiile clinice la pacienţii cu ciroză hepatică decompensată includerea ornitin-aspartatului în tratamentul complex a micşorat riscul dezvoltării comei şi letalitatea, iar utilizarea de durată a preparatului preîntâmpina evoluţia encefalopatiei hepatice la bolnavii cu ciroză hepatică, hepatite cronice virale şi alcoolice cu ameliorarea calităţii vieţii (Ильченко Л.Ю. и др., 2007). Autorii recomandă ca în hepatitele cronice L-ornitin-l-aspartatul să se prescrie câte 18g/zi granulat timp de 2 săptămâni, în ciroza hepatică – parenteral 20 g/zi, apoi 18g/zi timp de 6-8 săptămâni, iar în ciroza hepatică asociată cu peritonita spontană – 20-40 g/zi intravenos timp de 5-7 zile, apoi 18 g/zi intern timp de 2-3 luni.

**Citrargina** reprezintă o asociere dintre arginină şi betaină, efectul terapeutic fiind determinat de componenţii săi.

Betaina reprezintă un produs al oxidării colinei. Preparatul participă la sinteza metioninei, care, la rândul său, este o verigă importantă în producerea fosfolipidelor membranare. Betaina joacă un rol important în metabolismul lipidic deoarece: asigură transportul acizilor graşi în mitocondrii unde se supun beta-oxidării; contribuie la mobilizarea lipidelor din ficat; normalizează nivelul trigliceridelor în sânge în hipertrigliceridemie (îndeosebi în pancreatita cronică); favorizează sinteza fosfolipidelor; intensifică utilizarea lipidelor acumulate. În insuficienţa betainei (sinteza în organism este limitată), îndeosebi în cazul abuzului de alcool, se dezvoltă steatoza hepatică (Харченко Н.В., Опанасюк Н.Д., 2002, Драгомирецкая Н.В., 2002, Губергриц Н.Б., Лобас Е.В., 2003, ).

Arginina ocupă o poziţie intermediară între aminoacizii esenţiali şi non-esenţiali deoarece în procesele de creştere sau situaţii patologice este majorată necesitatea, iar sinteza nu acoperă necesităţile. Aminoacidul este necesar pentru sinteza proteinelor în nucleu şi citoplasmă, acumularea energiei în celule cu activarea proceselor regeneratoare şi de reabilitare. Arginina este o verigă sinergică a ornitinului pentru neutralizarea amoniacului în hepatocitele periportale, precum şi participă la mobilizarea lipidelor din celule. În cazul deficitului de arginină se dezvoltă hiperamoniemia, hiperglicemia, steatoza hepatică, disproteinemia, pierderi ponderale, retenţia creşterii. În abuzul de alcool arginina exogenă nu poate anihila pierderile de acid orotic, dereglările sintezei acizilor nucleici şi proceselor reparative. În maladiile ficatului este crescută activitatea arginazei cu dezvoltarea deficitului de arginină (Харченко Н.В., Опанасюк Н.Д., 2002, Драгомирецкая Н.В., 2002, Губергриц Н.Б., Лобас Е.В., 2003).

Utilizarea citrarginei în tratamentul complex al pacienţilor cu hepatite toxice acute, hepatita alcoolică şi hepatita virală C cronică a contribuit la dispariţia sindromului asteno-vegetativ, algic, dispeptic şi citolitic, regresia hepatomegaliei, iar la cei cu hepatită alcoolucă şi la normalizarea metabolismului lipidic (Драгомирецкая Н.В., 2002).

Includerea citrarginei în tratamentul complex al bolnavilor cu hepatite cronice şi ciroză hepatică a contribuit la evoluţia pozitivă a sindromului algic, dispeptic, asteno-vegetativ, colestatic, citolitic, precum şi a parametrilor metabolismului şi a datelor ultrasonografice (Харченко Н.В., Опанасюк Н.Д., 2002).

La pacienţii cu hepatită alcoolică cronică asociată cu pancreatita alcoolică cronică citrargina a ameliorat tabloul clinic, a diminuat manifestările sindromului citolitic şi colestatic şi a intensificat sinteza proteinelor în ficat (Губергриц Н.Б., Лобас Е.В., 2003).

**Glutargina** reprezintă o asociere dintre L-arginină şi acid glutamic (L-glutamat) care poate manifesta efect detoxicant, membranostabilizator, antioxidant, hipoamoniemiant, antihipoxic, metabolic etc. (Бабак О.Я., 2003, Звягинцева Т.Д., Дергачева А.В., 2004, Соломенник А.О. идр., 2010).

Efectul hipoamonemiant se explică prin: capacitatea de reglare în calitate de activatori ai enzimelor în reacţiile de detoxifiere a amoniacului; proprietăţile metabolice în calitate de substrat ale acestor reacţii cu activarea trecerii amoniacului în uree în ciclul ornitinic când acidul glutamic interacţionează cu ionii de amoniu cu formarea glutaminei.

Efectul detoxicant se manifestă prin majorarea activităţii citocromului P-450 membranar cu amplificarea detoxicării xenobioticelor.

Efectul antioxidant se datorează reducerii proceselor POL şi creşterii activităţii sistemului antioxidant endogen. Se consideră că în procesul utilizării argininei se formează prolina, ureea, poliamine, compuşi guaninici ce manifestă proprietăţi antioxidante şi membranostabilizatoare.

Efectul membranostabilizator se relevă prin diminuarea activităţii enzimelor citolitice şi producerea compuşilor cu proprietăţi antioxidante.

Efectul antihipoxic şi antiischemic se realizează prin optimizarea transportului oxigenului şi utilizării lui în ţesuturi cu creşterea rezistenţei organismului la hipoxie. Un aport important poate avea capacitatea argininei de a forma oxidul nitric (NO) cu ameliorarea fluxului arterial şi reducerea rezistenţei venoase în vena portă cu îmbunătăţirea microcirculaţiei.

Efectele metabolice se pot realiza prin: majorarea conţinutului proteinelor în ficat şi sânge prin influenţa asupra nucleului cu creşterea nivelului de ADN; acţiunea benefică asupra metabolismului lipidic prin capacitatea de a restabili esterificarea colesterolului cu reducerea colesterolului total şi fracţiilor esterificate ce contribuie la preîntâmpinarea steatozei hepatice.

Utilizarea glutarginei în tratamentul complex al pacienţilor cu hepatite toxice (10 zile parenteral, apoi 15 - enteral) a contribuit la ameliorarea datelor subiective şi parametrilor biochimici deja la a 4 zi cu normalizarea lor la finele curei (Звягинцева Т.Д., Дергачева А.В., 2004).

Glutargina la tratamentul complex al bolnavilor cu hepatită virală A de gravitate medie a determinat ameliorarea tabloului clinic (sindromului asteno-vegetativ, dispeptic, icteric) şi indicilor de laborator (AlAT, probei timol, bilirubinei totale şi fracţiilor ei) (Соломенник А.О. идр., 2010).

Includerea glutarginei în tratamentul pacienţilor cu hepatite virale acute s-a soldat cu îmbunătăţirea simptomelor clinice şi diminuarea activităţii transaminazelor şi nivelului bilirubinei, amoniacului fără a se constata variante de evoluţie latentă sau cronicizare. La utilizarea glutarginei la bolnavii cu ciroză au fost raportate rezultate benefice relevate prin reducerea sindromului citolitic, colestatic, inflamaţiei mezenchimale şi preîntâmpinarea instalării simptomelor encefalopatiei hepatice (Бабак О.Я., 2003).

Glutargina s-a dovedit eficientă la pacienţii intoxicaţi cu ciuperci la utilizarea din primele ore relevată prin jugularea simptomelor clinice, reducerea sindromului citolitic şi preîntâmpinarea dezvoltării complicaţiilor (encefalopatiei hepatice, precomei şi comei). Preparatul se recomandă în tratamentul complex al hepatitelor acute şi cronice de diferită geneză, ciroza hepatică, intoxicaţii cu toxice hepatotrope, inclusiv ciuperci (Бабак О.Я., 2003).

**Hepasolul** reprezintă o asociere a L-argininei, L-acidului asparaginic, sorbitului şi vitaminelor B. Preparatul manifestă efect hepatoprotector, detoxicant, metabolic şi imunomodulator moderat. Efectul clinic se bazează pe administrarea substraturilor metabolice ce participă la sinteza ureei şi altor produse biochimice. Astfel, L-arginina contribuie la trecerea amoniacului în uree, la cuplarea ionilor de amoniu ce se formează la metabolismul proteinelor în ficat. Acidul participă la sinteza ATP-ului în ciclul Krebs, este predecesorul aspartatului care activ cuplează amoniacul, iar împreună cu sorbitul asigură cu energie. Hepasolul contribuie la micşorarea intoxicaţiei prin accelerarea metabolismului amoniacului în ficat şi creier. Preparatul creşte potenţialul antioxidant al sângelui (Волчкова Е.В. и др., 2010).

În ultimii ani s-au acumulat date importante ce denotă eficacitatea clinică în tratamentul bolii alcoolice a ficatului, hepatitele toxice şi medicamentoase, maladiile hepatice însoţite de colestază, îndeosebi intrahepatică, hepatitele din maladiile somatice, hepatita virală C, ciroza hepatică (Ткач С.М., 2009, Бакулин И.Г., Сандлер Ю.Г., 2010, Юрьев К.Л., 2011, Крамарев С.А., 2011).

Un şir de momente precum biodisponibilitatea mică la administrarea internă ce necesită administrarea parenterală pentru a obţine un efect hepatoprotector maxim; instabilitatea chimică ce reduce timpul de valabilitate a preparatului; riscul sindromului serotoninic (până la deces) la asocierea cu alte preparate antidepresive (Морозов С.В., Кучерявый Ю.А., 2011).

Actualmente regimul de dozare al ademetioninei include administrarea intravenoasă a 800 mg odată pe zi timp de 14 zile, apoi intern câte 800 mg de 2 ori/zi timp de 2-4 săptămâni (Морозов С.В., Кучерявый Ю.А., 2011).

Din derivaţii de aminoacizi prezintă interes preparatul L-ornitină-L-aspartat (Hepa-Merţ etc.) care participă în procesele metabolice cu inactivarea amoniacului şi sinteza ureei şi glutaminei în ficat. Studiile rondomizate au stabilit eficacitatea preparatului în maladiile ficatului însoţite de encefalopatia hepatică (Морозов С.В., Кучерявый Ю.А., 2011).

**Preparatele acizilor biliari. Acidul ursodezoxicolic**

Acidul ursodezoxicolic (AUDC) reprezintă un acid biliar terţiar fiziologic care se sintetizează în ficat din acidul 7-chetolitocolic, produs de bacterii prin oxidarea acidului chenodezoxicolic (ACDC). AUDC este mai hidrofil în comparaţie cu alţi acizi care conţin grupe hidroxil în poziţiile 3,7 şi 12 alfa din care cauză este mai puţin toxic (Харченко Н.В., 2002, Колесникова Е.В., 2008, Бакулин И.Г., Сандлер Ю.Г., 2010).

Sărurile acizilor biliari ce se conţin în bilă sunt reprezentate de cele ale acizilor chenodezoxicolic (ACDC) – 38-54%, colic (AC) – 26-39% şi dezoxicolic (ADC) – 16-33%, în timp ce AUDC şi litolcolic (ALTC) se determină în proporţii mici de circa 0,1-5%. Utilizarea AUDC într-o maneră dozo-dependentă modifică esenţial acest raport (Харченко Н.В., 2002, Колесникова Е.В., 2008, Бакулин И.Г., Сандлер Ю.Г., 2010).

În maladiile hepatice s-a constatat o acumulare mai mică a AUDC în bilă, posibil, datorită micşorării absorbţiei sau secreţiei ( Колесникова Е.В., 2008). Eficacitatea terapeutică a AUDC în afecţiunile hepatice şi biliare depinde de concentraţia acestuia în sistemul enterohepatic. Preparatul se caracterizează printr-un clearance hepatic rapid (50-75% se supune primului pasaj hepatic) ce determină un nivel mic în sânge, deşi se absoarbe bine în tubul digestiv. În ficat are loc conjugarea AUDC cu glicina, taurina, N-acetilglucozamina, acidul glucuronic şi sulfat care se elimină în bilă şi apoi în intestin unde se metabolizează cu ajutorul bacteriilor ( Колесникова Е.В., 2008). În intestinul subţire AUDC se absoarbe pasiv, iar în sectorul terminal iliac – activ. Conjugaţii trec prin ficat şi ulterior iar în bilă. AUDC şi conjugaţii lui, ce nu s-au absorbit în intestin, se metabolizează cu participarea bacteriilor.

Acţiunea hepatoprotectoare a AUDC în afecţiunile hepatice şi biliare este complexă şi cauzată de un şir de efecte: citoprotector, regenerator, antiinflamator, imunomodulator, litolitic, coleretic, anticolestatic, antiapoptotic, antitoxic, hipocolesteremiant, antioxidant, antifibrotic etc.(schema 2.10).

**Efectul litolitic** al AUDC este cauzat de diminuarea litogenităţii bilei datorită formării cristalelor solubile cu moleculele colesterolului cu preîntâmpinarea formării şi dizolvarea calculilor colesterolici (Festi D et al., 2007, Харченко Н.В., 2002, Буеверов А.О., 2004, 2005, Вовк Л.М., 2008, Колесникова Е.В., 2008, Григорьева И.Н. и др., 2009, Бакулин И.Г., Сандлер Ю.Г., 2010).

**Efectul coleretic** al AUDC este determinat de: creşterea secreţiei coleretice de hidrocarbonat ce amplifică eliminarea acizilor biliari hidrofobi în intestin; concurenţa pentru captarea de receptorii din intestin a acizilor biliari hidrofobi toxici; stimularea exocitozei în hepatocite prin activarea alfa-proteinchinazei Ca-dependente ce contribuie la micşorarea concentraţiei acizilor biliari hidrofobi (Festi D et al., 2007, Буеверов А.О., 2004, 2005, Вовк Л.М., 2008, Колесникова Е.В., 2008, Григорьева И.Н. и др., 2009, Бакулин И.Г., Сандлер Ю.Г., 2010) .

**Efectul anticolestatic** al AUDC este relevat prin: inhibarea secreţiei acizilor biliari toxici în bilă datorită captării concurente de receptorii din intestin; stimularea exocitozei în hepatocite prin activarea alfa-proteinchinazei Ca-dependente ce contribuie la micşorarea concentraţiei acizilor biliari hidrofobi (Festi D et al., 2007, Буеверов А.О., 2004, 2005, Вовк Л.М., 2008, Колесникова Е.В.. 2008, Григорьева И.Н. и др., 2009, Бакулин И.Г., Сандлер Ю.Г., 2010).

**Efectul citoprotector** al AUDC este determinat de infiltrarea acestuia, datorită grupei hidrofile 7-beta-hidroxil, în stratul fosfolipidic al membranei celulare a hepatocitelor şi colangiocitelor cu stabilizarea ei şi creşterea rezistenţei la factorii agresivi (Tolman K.G. et al., 2007Festi D et al., 2007, Буеверов А.О., 2004, 2005, Вовк Л.М., 2008, Колесникова Е.В.. 2008, Григорьева И.Н. и др., 2009, Бакулин И.Г., Сандлер Ю.Г., 2010).

**Efectul regenerator** al AUDC este cauzat de stimularea mitozei hepatocitelor şi regenerării ficatului după rezecţie la animalele experimentale; inhibarea proliferării celulelor hepatomei la om (Вовк Л.М., 2008, Колесникова Е.В.. 2008, Григорьева И.Н. и др., 2009).

**Efectul imunomodulator** al AUDC se explică prin: micşorarea espresiei moleculelor HLA-1-clasei pe hepatocite şi HLA-2-clasei pe colangiocite ce reduce autoimunitatea lor; diminuarea producerii citochinelor proinflamatorii (IL-1, IL-2, IL-6, TNF-alfa, gama-interferonului); reducerea sintezei IgM (mai puţin IgG şi IgA); inhibarea expresiei antigenelor de histocompatibilitate pe hepatocite şi colangiocite cu preîntâmpinarea activării limfocitelor-T citotoxice; micşorarea producerii anticorpilor şi reacţiilor imunopatologice (Festi D et al.. 2007, Tolman K.G. et al., 2007, Ratziu V. et al., 2011, Буеверов А.О., 2004, 2005, Вовк Л.М., 2008, Колесникова Е.В.. 2008, Григорьева И.Н. и др., 2009).

**Efectul antiinflamator** al AUDC este relevat prin: diminuarea nivelului majorat al eozinofilelor şi conţinutului prostaglandinei $E_2$ în sânge la pacienţii cu ciroză biliară primară; micşorarea activităţii fosfolipazei $A_2$ în sânge la bolnavii cu ciroză biliară primară; reducerea producerii citochinelor proinflamatorii (IL-1, IL-2, IL-6, TNF-alfa, gama-interferonului); inhibarea eliberării mediatorilor inflamaţiei din mastocite în maladiile inflamatoare ale intestinului (Tolman K.G. et al., 2007, Saito S.et al., 2009, Pathil A et al., 2011, Ratziu V. et al., 2011, Колесникова Е.В.. 2008, Григорьева И.Н. и др., 2009).

Pathil A. şi coaut. (2011) au constatat că AUDC, îndeosebi conjugatul acestuia cu lipofosfatidiletanolamida, manifestau *in vitro* efect protector faţă de inflamaţia şi apoptoza hepatocitelor indusă de TNF-alfa. Efectul este determinat de inhibarea expresiei citochinelor proinflamatorii şi chemochinelor. În afecţiunile hepatice experimentale preparatul diminuează activitatea fosfolipazei $A_2$.

Saito S. şi coaut.(2009) consideră că efectul antiinflamator al AUDC se datorează stimulării secreţiei hepatobiliare, reducerii citotoxicităţii acizilor biliari hidrofobi, supresiei transcripţiei NF-kB-dependente prin influenţarea receptorilor glucocorticoizi şi micşorării transcripţiei fosfolipazei $A_2$ induse de citochinele proinflamatorii.

**Efectul antitoxic** al AUDC (faţă de ficat şi SNC) este cauzat de: inducţia CYP 3A4 în ficat; inhibarea apoptozei astrocitelor induse de hiperbilirubinemie; mobilizarea sistemelor transportoare a neuronilor SNC, responsabile de eliminarea acizilor biliari toxici; acţiunea neuroprotectoare (Григорьева И.Н. и др., 2009).

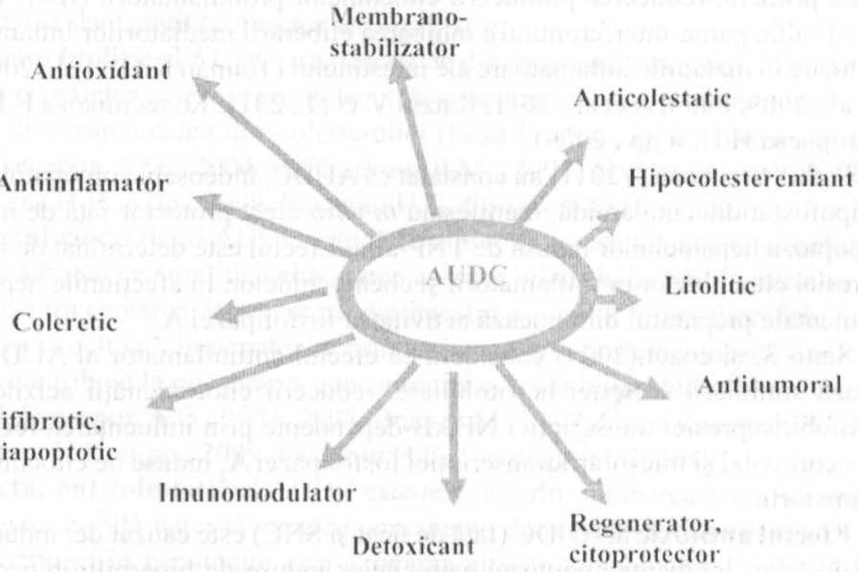
**Efectul hipocolesteremiant** al AUDC este determinat de: micşorarea absorbţiei colesterolului din intestin; inhibarea sintezei colesterolului în ficat; diminuarea excreţiei colesterolului în bilă ( Буеверов А.О., 2004, 2005,Вовк Л.М., 2008, Колесникова Е.В.. 2008, Григорьева И.Н. и др., 2009, Бакулин И.Г., Сандлер Ю.Г., 2010).

S-a constatat că AUDC inhibă moderat producerea colesterolului de ficat prin blocarea HMG-KoA-reductazei cu diminuarea nivelului colesterolului şi normalizarea celui al HDL şi LDL (Колесникова Е.В.. 2008).

**Efectul antiapoptotic.** AUDC produce modularea apoptozei prin: micşorarea concentraţiei $Ca^{2+}$ în celule; preîntâmpinarea ieşirii citocromului C din mitocondrii ce blochează activitatea capsazelor şi apoptoza colangiocitelor; inhibarea apoptozei hepatocitelor în maladiile colestatice ale ficatului; acţiune antiapoptotica la nivelul SNC; stimularea apoptozei mucoasei intestinului gros (Festi D et al., 2007, Tolman K.G. et al., 2007, Буеверов А.О., 2004, 2005, Колесникова Е.В.. 2008, Григорьева И.Н. и др., 2009).

AUDC se consideră un preparat cu acţiune antiapoptotică demonstrată în condiţii experimentale pe hepatocite izolate în care preparatul protejează mitocondriile de afectare, inhibă stresul oxidativ şi apoptoza indusă de toxine. Prin studiul acidului taurocolic, dezoxicolic şi AUDC s-a dovedit că doar ultimul reglează proteinele ciclului celular ce participă în apoptoză cu creşterea viabilităţii hepatocitelor cu regresia fibrozei ( Колесникова Е.В.. 2008).

**Efectul antioxidant** al AUDC se manifestă prin: diminuarea peroxidării lipidelor; activarea enzimelor de reducere a glutationului; intensificarea activităţii sis-


Membrano-
stabilizator
Antioxidant
Anticolestatic
Antiinflamator
Hipocolesteremiant
AUDC
Litolitic
Coleretic
Antitumoral
Antifibrotic,
Antiapoptotic
Imunomodulator
Detoxicant
Regenerator,
citoprotector

**Schema 2.10 Efectele acidului ursodezoxicolic.**

temului antioxidant (Ratziu V. et al., 2011, Вовк Л.М., 2008, Колесникова Е.В., 2008, Григорьева И.Н. и др., 2009).

**Efectul antitumoral** al AUDC este cauzat de: preîntâmpinarea mutaţiilor celulare Ras specifice pentru cancerul rectal; blocarea activării celulelor Ras atipice; inhibarea expresiei COX-2 pe celulele canceroase; stimularea apoptozei mucoasei intestinului gros (Колесникова Е.В., 2008, Григорьева И.Н. и др., 2009). În condiţii experimentale s-a constatat capacitatea AUDC de a preîntâmpina inducţia cancerului intestinului gros de azoximetan, iar în cele clinice de a reduce riscul displaziei colorectale la pacienţii cu colita ulceroasă nespecifică şi colangita sclerozantă primară.

**Efectul antifibrotic** al AUDC a fost demonstrat histologic în condiţii experimentale şi clinice care era dependent de doză, fiind mai manifest la doze de 20 şi 30 mg/kg/zi (Ratziu V. et al., 2011, Колесникова Е.В., 2008).

Introducerea AUDC în terapeutică ca remediu colelitolitic şi utilizarea cu succes în litiaza biliară a permis în ultimele decenii de a elucida un şir de efecte benefice care în baza studiilor experimentale şi clinice au lărgit mult indicaţiile terapeutice ale acestuia. Astfel, actualmente AUDC are un domeniu larg de utilizare ce include:

1. Maladiile colestatice ale ficatului: litiaza biliară, colangita sclerozantă primară, ciroza biliară primară, sindromul overlap (asocierea a 2 afecţiuni autoimune sau a unei autoimune cu alta virală), precum şi un şir de maladii colestatice rare (atrezia biliară, sindromul Alajil, boala Karoli, colestaza intrahepatică recidivantă benignă, colestaza intrahepatică familială progresivă, colangiopatia asociată SIDA, colestaza din nutriţia parenterală), colestaza indusă de medicamente (anticoncepţionale orale, danazol, unele antibiotice, anabolizante steroidiene, carotina, clorpromazina, isofluran etc.) şi colestaza intrahepatică la gravide.
2. Steatoza hepatică şi steatohepatita non-alcoolică.
3. Boala alcoolică a ficatului (steatoza, hepatita şi ciroza).
4. Hepatitele virale cronice.
5. Afecţiunile hepatice toxice şi medicamentaose.
6. Colecistite, colesterinoza vezicii biliare.
7. Mucoviscidoza, celiachia.
8. După transplant de organe (ficat, cord, măduvă etc.).
9. Boala de reflux (esofagita de reflux, reflux duodeno-gastral ).
10. Afecţiuni ale pancreasului (pancreatita biliară, pancrestita cronică etc.).
11. Maladiile inflamatoare ale intestinului (boala Krohn, colita ulceroasă nespecifică).
12. Sindromul Jilber (Festi D et al., 2007, Keith G.Tolman et al., 2007,Zhang L.X. et al., 2010, Leon A.Adams et al., 2010, He H. Et al., 2011, Ratziu V. et al., 2011, Харченко Н.В., 2002, Буеверов А.О., 2004, 2005, Вовк Л.М., 2008, Колесникова Е.В., 2008, Григорьева И.Н. и др., 2009, Бакулин И.Г., Сандлер Ю.Г., 2010).

**Litiaza biliară** constituie una din primele indicaţii ale AUDC, eficacitatea fiind exprimată prin manifestarea efectului litolitic, coleretic, anticolestatic, hipocolesteremiant etc. (Харченко Н.В., 2002, Буеверов А.О., 2004, 2005, Алексеенко С.А. и др., 2006, Вовк Л.М., 2008, Колесникова Е.В., 2008, Григорьева И.Н. и др., 2009, Бакулин И.Г., Сандлер Ю.Г., 2010). În acest caz s-a constatat inhibarea sintezei colesterolului, diminuarea absorbţiei colesterolului din intestin şi eliminării lui în bilă, substituirea acizilor biliari toxici cu formarea cristalelor solubile ce contribuie la micşorarea litogenităţii bilei.

Terapia litolitică este recomandată preponderent pacienţilor cu calculi biliari colesterolici de dimensiuni 5-10 mm cu: litiază biliară cu simptome moderate; risc sporit de intervenţie chirurgicală sau pacienţilor care nu se decid la ea; microlitiază biliară (sladj biliar); factori de risc pentru formarea calculilor (hipochinezia vezicii biliare, obezitatea, creşterea concentraţiei ADC, genotipul apoE4, graviditatea, pierdere ponderală rapidă, perioada de reconvalescenţă după intervenţii în cavitatea abdominală etc.). În aceste situaţii dozele recomandate constituie 10-15 mg/kg/zi cu administrarea preponderent seara datorită faptului că sinteza acizilor biliari are loc predominant noaptea. Eficacitatea clinică depinde de funcţionalitatea veziciii biliare, diametrul calculilor şi starea pacientului, iar efectul se atinge lent (3-9 luni şi mai mult). E necesar de remarcat că tratamentul în majoritatea cazurilor necesită a fi continuat până la 6 luni pentru preîntâmpinarea recidivelor litiazei.

**Colestaza intrahepatică la gravide.** În trimestrul III al gravidităţii se poate dezvolta colestaza intrahepatică cauzată de creşterea sensibilităţii la efectele colestatice ale estrogenilor. În acest caz la mamă se poate manifesta majorarea frecvenţei hemoragiilor postnatale etc., iar la făt creşterea riscului prematurităţii şi letalităţii perinatale. Tratamentul cu AUDC (îndeosebi în asociere cu ademetionina) reduce simptomele clinice (pruritul etc.), nivelul acizilor biliari şi enzimelor în sânge şi frecvenţa naşterilor premature şi complicaţiilor (Колесникова Е.В., 2008, Григорьева И.Н. и др., 2009).

Colestaza intrahepatică în timpul gravidităţii este un factor patologic important ce afectează sănătatea fătului. S-a constatat că AUDC utilizat la gravide cu colestază a contribuit la diminuarea marcată a concentraţiei ALC cu menţinerea concentraţiei acizilor biliari totali în sânge (Lucangioli S.E. et al., 2009). Autorii consideră că determinarea nivelului acidului litocolic poate fi folosit ca un parametru specific în diagnosticarea colestazei la gravide şi ca un criteriu de eficacitate a tratamentului.

**Hepatitele virale.** La baza eficacităţii AUDC în hepatitele virale stau efectele hepatoprotector, anticolestatic şi imunomodulator (Григорьева И.Н. и др., 2009). Autorii denotă ameliorarea tabloului clinic, indicilor biochimici şi dereglărilor histologice, inclusiv şi ca monoterapie la pacienţii cu hepatitele virale B şi C la care este contraindicată interferonoterapia. În acelaşi timp asocierea interferonului cu AUDC s-a dovedit mai efectivă faţă de viteza atingerii şi duratei răspunsului biochimic, diminuării gradului de inflamaţie portală şi inidcelui Knodell, precum şi frecvenţei obţinerii răspunsului antiviral. Aceste date le-au permis autorilor să considere terapia cu AUDC ca supliment important la interferonoterapie la pacienţii cu hepatite virale cronice. S-au raportat, de asemenea, rezultate pozitive preliminare de tratament cu AUDC la bolnavii infectaţi cu virusurile G şi TT (Харченко Н.В., 2002, Вовк Л.М., 2008, Колесникова Е.В., 2008, Григорьева И.Н. и др., 2009).

Harcenco N.V. (2002) relatează că la pacienţii cu hepatită virală cronică C colestaza implică în procesul patologic ducturile biliare mici cu dezvoltarea colangitei destructive, care poate fi depistată mai frecvent doar morfologic.

Sato S şi coaut. (2009) au relatat că AUDC recomandat până în 2006 în doze de 150 mg/zi în tratamentul complex al pacienţilor cu hepatite virale cronice, s-a dovedit inofensivă din care considerente în baza studiilor suplimentare s-a demonstrat necesitatea de a folosi doze de 600-900 mg/zi, care ameliorează activitatea AlAT, AsAT şi GGT.

Utilizarea AUDC în doze de 150, 600 şi 900 mg/zi la pacienţii cu hepatită virală cronică C (HVC) ce nu au răspuns adecvat la tratamentul antiviral a contribuit la normalizarea activităţii enzimelor fără a influenţa încărcătura virală (Omata M. et al., 2007). Concomitent s-a constatat că activitatea AlAT şi AsAT se micşora mai efectiv la doze de 600 şi 900 mg/zi faţă de 150 mg/zi, dar nu se remarca o diferenţă între dozele de 600 şi 900 mg/zi. În acelaşi timp diminuarea activităţii GGT era dependentă de doză şi s-a dovedit a se reduce mai accentuat la administrarea a 900 mg/zi timp de 24 săptămâni. La determinarea concentraţiei acizilor biliari totali s-a constatat o creştere dozo-dependentă a acesteia. Concomitent s-a depistat majorarea ratei AUDC în ser care era similară dozelor de 600 şi 900 mg/zi (Omata M. et al, 2007). În acelaşi timp, se reducea proporţia acizilor biliari mai puţin hidrofili precum ADC, AC şi DC, îndeosebi la dozele de 600 şi 900 mg/zi fără a se constata o diferenţă esenţailă între aceste grupe. Autorii au relevat o reducere nesemnificativă a nivelului ARN HVC la utilizarea dozelor respective şi o incidenţă similară a efectelor adverse în grupele cercetate. Astfel, pentru ameliorarea activităţii transaminazelor se pot recomanda doze de 600 mg/zi AUDC, în timp ce evoluţia dereglărilor colestazei biliare la pacienţii cu HVC vor necesita doze de 900 mg/zi.

Saito S. şi coaut. (2009) au constatat că AUDC în doze de 900 mg/zi faţă de 600 mg/zi contribuiau la o diminuare mai veridică a activităţii AlAT, AsAT şi GGT la pacienţii cu HVC cu o incidenţă similară a efectelor adverse. Concomitent nu s-a determinat o modificare esenţială a nivelului albuminei şi bilirubinei totale. Autorii consideră că dozele de 900 mg/zi AUDC denotă efecte benefice la pacienţii cu HVC cronică prin diminuarea activităţii şi evoluţiei spre ciroză, deşi nu manifestă efect antiviral.

**Boala alcoolică a ficatului.** Grigorieva I.N.şi coaut. (2009) au relatat despre reducerea sindromului astenic şi dispeptic, micşorarea bilirubinei şi altor parametri biochimici la bolnavii cu steatoză, hepatită şi ciroză alcoolică sub tratament cu AUDC. Preparatul acţionează în acest caz ca un remediu patogenetic prin acţiune antiinflamatoare (micşorarea activităţii citochinelor proinflamatorii), imunomodulatoare, anticolestatică şi antioxidantă (diminuarea POL, creşterea activităţii antioxidante).

AUDC se consideră un agent patogenetic în tratamentul diferitor forme ale bolii alcoolice a ficatului (BAF) datorită efectului coleretic, citoprotector, hepatoprotector, antiapoptotic, hipocolesteremiant, imunomodulator, litolitic, antioxidant etc., deoarece poate împiedica mecanismele patogenetice precum: acţiunea toxică a acizilor biliari, dereglările metabolismului lipidic şi funcţiilor mitocondriilor, instalarea stresului oxidativ, hipoxiei, fibrozei şi iniţierea reacţiilor imune (Буеверов А.О., 2004, 2005). Preparatul se consideră de elecţie în hepatita alcoolică acută cu colestază, deoarece semnele colestazei intrahepatice se asociază cu un pronostic nefavorabil în BAF. Utilizarea AUDC este argumentată şi în caz de semne biochimice *sau histologice ale colestazei în hepatita alcoolică, ciroza compensată şi* subcompensată. În steatoza hepatică alcoolică fără inflamaţie este benefic efectul citoprotector al AUDC (Буеверов А.О., 2004).

**Steatohepatita nonalcoolică.** Maladiile ficatului cauzate de infiltrarea lipidică constituie o frecvenţă de circa 30% în populaţie şi o cauză majoră a morbidităţii şi mortalităţii. Acestea sunt cauza creşterii incidenţei insulinorezistenţei, obezităţii şi diabetului (Leon A.adams et al., 2010). AUDC, ca un remediu efectiv şi bine tolerat, a manifestat efect hepatoprotector şi imunomodulator în afecţiunile experimentale hepatice cronice. Preparatul substituie acizii biliari hidrofobi toxici şi stimulează secreţia acizilor biliari hidrofili.

Utilizarea AUDC în doze de 13-15 mg/kg/zi timp de un an s-a soldat la pacienţii cu steatohepatită nonalcoolică (SHNA) cu micşorarea sindromului de citoliză şi colestază, steatoză hepatică (histologic) determinate de acţiunea anticolestatică, hepatoprotectoare, antiinflamatoare, imunomodulatoare şi antioxidantă (Григорьева И.Н. и др., 2009).

Administrarea AUDC în SHNA a contribuit la evoluţia pozitivă a sindromului de citoliză şi colestază, precum şi a manifestat acţiune antifibrotică prin micşorarea concentraţiei serice a peptidei N-terminale a colagenului de tip III şi metaloproteinazelor cu creşterea concomitentă a inhibitorilor tisulari ( Колесникова Е.В., 2008).

AUDC ameliorează stresul oxidativ prin micşorarea hidroperoxizilor în hepatocitele steatotice şi reduce suscitabilitatea lor la necroză. Preparatul, de asemenea, stabilizează membrana mitocondriilor şi inhibă activitatea caspazelor cu reducerea apoptozei. AUDC manifestă şi efect imunomodulator prin corecţia activităţii NK celulelor, responsabile de progresia SHNA. La pacienţii cu această patologie AUDC scade producerea de TNF-alfa, care joacă un rol important în patogeneza SHNA, şi este responsabil de instalarea insulinorezistenţei şi fibrozei hepatice (Leon A. Adams et al., 2010). Autorii au constatat că AUDC în doze mari (28-32 mg/kg/zi) este mai efectiv, în comparaţie cu dozele standard (13-15 mg/kg/zi), în tratamentul SHNA prin normalizarea nivelului transaminazelor. Eficacitatea preparatului se explică, probabil, prin efectul antiapoptotic şi antioxidant.

AUDC se consideră un remediu patogenetic în afecţiunile hepatice, inclusiv SHNA, datorită acţiunii antiapoptotice, citoprotectoare, imunomodulatoare şi antiinflamatoare (Tolman K.G. et al., 2007).

**Mucoviscidoza.** Colestaza în mucoviscidoză este cauzată de creşterea expresiei genei în epiteliul ducturilor biliare cu majorarea viscozităţii bilei, progresarea colestazei şi formarea cirozei hepatice. Tratamentul timp de 3 ani cu AUDC a contribuit la ameliorarea simptomelor clinice şi parametrilor biochimici, diminuarea densităţii parenchimului hepatic, gradului de neomogenitate şi grosimii pereţilor vezicii biliare (Григорьева И.Н. и др., 2009).

**Afecţiunile pancreatice.** La utilizarea AUDC s-au constatat rezultate benefice în tratamentul afecţiunilor pancreatice (pancreatita cronică, pancreatita biliară, pancreatita idiopatică etc.) relevate prin ameliorarea simptomelor clinice, parametrilor biochimici, diminuarea proceselor inflamatoare şi litogenităţii bilei (Григорьева И.Н. и др., 2009).

**Boala de reflux.** AUDC a manifestat capacitatea de a reduce efectul negativ al acizilor biliari asupra mucoasei esofagului şi stomacului în cadrul refluxului duodeno-gastral şi duodeno-gastro-esofagian cu preîntâmpinarea modificărilor patologice ale mucoaselor, formării esofagului Barett şi focarelor de metaplazie intestinală (Колесникова Е.В., 2008, Григорьева И.Н. и др., 2009).

**Colesterinoza vezicii biliare.** Kolesnicova E.V. şi coaut.(2008) relatează despre eficacitatea AUDC în tratamentul diferitor forme ale colesterinozei vezicii biliare, aceasta fiind invers dependentă de numărul polipilor colesterinici, omogenitatea bilei şi durata tratamentului.

**Sindromul Jilber.** Acest sindrom se caracterizează prin dezvoltarea secundară a fenomenelor de colestază cu evoluţie până la litiază biliară. AUDC, în aceste cazuri, s-a dovedit efectiv la utilizarea cu scop profilactic şi curativ ( Колесникова Е.В., 2008).

**Ciroza biliară primară.** În ciroza biliară primară (CBP), unul din primele simptome este pruritul, stadiu în care nu se determină dereglări funcţionale ale ficatului, când la circa 95% bolnavi se evidenţiază anticorpi antimitocondriali, responsabili de iniţierea proceselor patologice (Харченко Н.В., 2002). Utilizarea AUDC (12-15 mg/kg/zi) la aceşti pacienţi a redus colestaza şi, respectiv, activitatea fosfatazei alcaline (FA) şi GGT. Preparatul s-a dovedit efectiv şi la bolnavii cu CBP deja constituită cu ameliorarea tabloului clinic, parametrilor hepatici şi calităţii vieţii cu reducerea letalităţii. În acest caz se cere o durată lungă a tratamentului. AUDC se consideră un remediu patogenetic ce preîntâmpină acţiunea hepatotoxică a acizilor biliari în cazul colestazei. În primul rând se afectează membranele mitocondriilor cu micşorarea producerii ATP cu dereglarea homeostazei calciului. Ultimul penetrează în celulă şi stimulează hidrolazele Ca-dependente, cu dereglarea citoscheletului hepatocitelor şi necrozei lor (Харченко Н.В., 2002).

AUDC în doze de 15 mg/kg/zi timp de 1,5-14 ani s-a dovedit efectiv la pacienţii cu CBP prin creşterea supravieţuirii (Колесникова Е.В., 2008)

În ultimii ani se discută despre inducerea apoptozei sub influenţa acizilor biliari cu determinarea semnelor morfologice caracteristice. Apoptoza se consideră consecinţă a creşterii nivelului intracelular al $Mg^{2+}$ şi activării proteazelor nucleare tripsinasemănătoare Mg-dependente cu dereglarea ADN (Харченко Н.В., 2002).

În CBP în situaţii experimentale şi clinice s-a determinat că acizii biliari stimulează expresia antigenelor HLA I pe hepatocite şi HLA II pe colangiocite considerate un factor predispozant de dezvoltare a reacţiilor autoimune contra hepatocitelor şi colangiocitelor (Харченко Н.В., 2002).

AUDC inhibă absorbţia acizilor chenodezoxicolic, litocolic şi dezoxicolic din intestin cu întreruperea circulaţiei enterohepatice a acizilor biliari toxici şi reducerea hepatotoxicităţii acestora (Харченко Н.В., 2002).

**Hepatoprotectoarele ce conţin fosfolipide esenţiale**

Hepatoprotectoarele în baza fosfolipidelor esenţiale (FE) constituie circa 16% din preparatele hepatoprotectoare utilizate în hepatologie. Fosfolipidele sunt componentul structural principal al membranelor celulare ce joacă un rol important în integritatea şi funcţionalitatea celulelor şi organitelor intracelulare (Okiyama W.et al., 2009, Журавель Е.В., Дороговоз С.М., 1998, Губергриц Н.Б., 2008, Ткач С.М., 2009, ). Lipidele nu se mai consideră un depo pasiv ce asigură celulele cu energie şi component al membranelor, ci substanţe biologic active cu un rol important în funcţionarea mecanismelor biochimice ce determină şi reglează starea funcţională a celulelor, reacţiile şi interacţiunile cu celulele vecine şi factorii mediului extern. Din aceste considerente tipuri separate de lipide naturale, fragmente biologic active şi analogii sintetici prezintă un interes deosebit în obţinerea preparatelor medicamentoase (Безкаравайный Б.А. и др.. 2007). Printre lipidele naturale cele mai importante sunt fosfo- şi glicofosfolipidele. Fosfolipidele reprezintă principalul component structural al membranelor care nu se sintetizează şi nu formează depouri importante în organism. După datele analizei radiologice, fosfolipidele reprezintă un cilindru constituit din 2 părţi inegale: cea mică constă din grupele polare formate din bazele azotate (colina, colamina sau serina), grupa fosfatidică şi glicerină, iar cea mare hidrofobă – din lanţurile acizilor graţi, cuplaţi cu glicerina. În calitate de acid gras saturat este acidul palmitic, iar nesaturaţi – oleinic, linoleic, linoleinic etc. Fosfolipidele asigură asimetria membranei, un fenomen universal caracteristic pentru toate celulele care este un proces activ determinat de ATP şi pompa lipidică sulfhidril dependentă (aminofosfolipidtranslocaza). Activarea duce la creşterea mişcării fosfolipidelor între straturi cu pierderea asimetriei (Безкаравайный Б.А. и др.. 2007, Губергриц Н.Б., 2008).

Fiecare membrană se deosebeşte print-un conţinut strict de diferite lipide care determină proprietăţile ei. Fosfolipidele prezintă compuşi endogeni sinteza cărora se dereglează la afectarea membranelor din care cauză, pentru a suplimenta deficitul lor, este necesar aportul exogen prin aşa-numitele „fosfolipide esenţiale" sau substanţa EPL. Substanţele EPL sunt obţinute din soie cu un conţinut de 72-76% şi 92-96% fosfatidilcolina (FC). Se disting şapte fracţii de FC cu un conţinut diferit de acizi graşi: 1,2-dilinoleilfosfatidilcolină (40-52%); palmitoil-linoleilfosfatidilcolină (23-24%); oleoil-linoleilfosfatidilcolină (12-13%); linoleoil-linoleilfosfatidilcolină (6-7%); stearoli-linoleilfosfatidilcolină (6%); palmitoil-oleoilfosfatidilcolină (3-4%) şi stearoil-arahidonoilfosfatidilcolină (1-2%). Astfel, 1,2-dilinoleilfosfatidilcolina calitativ şi cantitativ predomină în fosfolipidele membranare (Безкаравайный Б.А. и др., 2007, Губергриц Н.Б., 2008). Fosfatidilcolina constituie 50-70% din componentul lipidic al membranei citoplasmatice a hepatocitelor. Colina datorită sarcinilor negative determină hidrofilitatea, iar radicalii acizilor graşi asigură hidrofobicitatea membranei. Grupele polare sunt orientate spre exterior, iar cele lipofile spre interiorul stratului bilipidic. Acizii graşi nesaturaţi protejează FE de acţiunea fosfolipazei $A_2$ în duoden, care scindează lecitina din alimente până la colină (Звягинцева Т.Д., Чернобай А.И., 2008). După absorbţie FE se includ preponderent în lipoproteinele de densitate mare (HDL) şi se transportă în ficat unde se acumulează în celulele endoteliale ale sinusoidelor şi hepatocitelor, îndeplinind funcţia de substituţie şi de activare a sintezei fosfolipidelor endogene.

**Efectul hepatoprotector.** Fosfolipidele esenţiale manifestă efect hepatoprotector prin: creşterea activităţii, plasticităţii şi fluidităţii membranelor; restabilirea integrităţii membranelor hepatocitelor; efect de substituţie cu remodelarea structurii membranelor; normalizarea potenţialului metabolic; activarea enzimelor membranare fosfolipid-dependente; majorarea capacităţii detoxicante; acţiune antifibrotică; metabolismul lipidelor în proceul de sinteză a lipoproteinelor în ficat; formarea complexelor lipoproteice ce transportă colesterolul în sânge; preîntâmpinarea transformării celulelor Ito în fibroblaşti; majorarea activităţii colagenazei; diminuarea formării $F_2$-izoprostanelor, markerii POL; normalizarea proceselor metabolice (proteic, glucidic, lipidic); stabilizarea proprietăţilor fizico-chimice ale bilei; micşorarea sintezei citochinelor proinflamatorii; creşterea sensibilităţii la stimulii hormonali şi nonhormonali (Новиков В.Е., Климкина Е.И., 2005, Оковитый С.В., 2006, Безкаравайный Б.А. и др., 2007, Швец В.И. и др., 2007, Губергриц Н.Б., 2008, Звягинцева Т.Д. и др., 2008, Скрипник И.Н., 2009, Ткач С.М., 2009, Козько В.Н. и др., 2010, Пахомова И.Г., Успенский Ю.П., 2010, Полунина Т.Е., Маев И.В., 2010, Крамарев С.А., 2011).

Preparatele ce conţin FE în hepatologie sunt prescrise în: hepatitele virale (acute şi cronice); hepatitele toxice; hepatitele medicamentoase; boala alcoolică a ficatului (steatoza hepatică, hepatita alcoolică, ciroza hepatică); boala non-alcoolică a ficatului (steatoza, steatohepatita, ciroza hepatică); hepatitele cronice din maladiile somatice; insuficienţa hepatică; precoma şi coma hepatică, perioada pre- şi postoperatorie, inclusiv în intervenţiile pe sistemul hepato-biliar; hiperlipoproteinemie; hipertrigliceridemie; hipercolesterolemie (Новиков В.Е., Климкина Е.И., 2005, Оковитый С.В., 2006, Безкаравайный Б.А. и др., 2007, Швец В.И. и др., 2007, Губергриц Н.Б., 2008, Звягинцева Т.Д. и др., 2008, Скрипник И.Н., 2009, Ткач С.М., 2009, Щербинина М.В., 2009, Козько В.Н. и др., 2010, Полунина Т.Е., Маев И.В., 2010, Крамарев С.А., 2011).

În peste 30 modele experimentale de hepatită toxică (paracetamol, tetraclorura de carbon, tetraciclină, indometacină etc.) s-a demonstrat efectul benefic al FE relevat prin normalizarea structurii membranei citoplasmatice şi organitelor intracelulare, micşorarea sau absenţa necrozei hepatocitelor, reducerea semnificativă a infiltraţiei lipidice, ameliorarea parametrilor biochimici, metabolismului hepatocitelor şi intensităţii proceselor POL, activarea proceselor regeneratoare şi diminuarea intensităţii formării ţesutului conjunctiv (Новиков В.Е., Климкина Е.И., 2005, Губергриц Н.Б., 2008, Скрипник И.Н., 2009, Ткач С.М., 2009).

La pacienţii cu hepatite toxice cauzate de hidrocarburi halogenate, pesticide organofosforice şi antiepileptice s-a constatat o dinamică pozitivă sub tratament complex cu FE (Ивашкин В.Т. и др., 2008).

Referitor la preparatele FE este acumulată o bază suficientă de date conform medicinei bazate pe dovezi (Губергриц Н.Б., 2008, Звягинцева Т.Д. и др., 2008, Скрипник И.Н., 2009, Ткач С.М., 2009, Щербинина М.В., 2009, Ткач С.М., 2009, Бакулин И.Г., Сандлер Ю.Г., 2010, Полунина Т.Е., Маев И.В., 2010, Крамарев С.А., 2011, Морозов С.В., Кучерявый Ю.А., 2011). Astfel, s-a efectuat metanaliza a peste 200 studii clinice (peste 13000 pacienţi) care au inclus nu numai criterii subiective, clinice şi biochimice, dar şi morfologice, calităţii vieţii cu includerea pacienţilor cu un diapazon mare de vârstă (de la nou-născuţi la vârstnici), de doze (500-6000 mg) şi durată a tratamentului (de la câteva săptămâni până la 5 ani). În cadrul studiului randomizat, efectuat în 32 centre, s-a constatat un efect pozitiv al tratamentului complex al pacienţilor cu hepatite virale cronice B şi C (îndeosebi C) la asocierea FE cu interferonul alfa. Eficacitatea s-a relevat prin diminuarea activităţii transaminazelor, creşterea răspunsului la interferon, micşorarea recidivelor şi suportabilitatea mai bună a tratamentului (Новиков В.Е., Климкина Е.И., 2005, Губергриц Н.Б., 2008, Звягинцева Т.Д. и др., 2008, Скрипник И.Н., 2009, Ткач С.М., 2009, Щербинина М.В., 2009).

Esenţiale forte a fost inclus în 10 studii clinice în tratamentul comei hepatice în care a manifestat efecte benefice în comparaţie cu grupa de control (Звягинцева Т.Д. и др., 2008). Preparatul s-a dovedit efectiv şi la pacienţii cu afecţiuni toxice ale ficatului la utilizarea preparatelor antituberculoase.

Un interes deosebit prezintă utilizarea FE în steatoza hepatică (alcoolică şi nonalcoolică). Analiza studiilor multicentrice a demonstrat eficacitatea preparatului esenţiale forte N indiferent de regiunea geografică (Kina, Japonia, SUA, Europa). Eficacitatea preparatului se explică prin: controlul gradului de manifestare a sindromului metabolic prin normalizarea metabolismului lipidic şi glucidic; diminuarea infiltraţiei lipidice datorită restabilirii integrităţii membranelor; micşorarea proceselor inflamatoare în acinusuri şi zonele periportale; preîntâmpinarea transformării celulelor ce conţin lipide în fibroblaşti; reducerea nivelului colesterolului, trigliceridelor şi LDL în ser prin micşorarea absorbţiei colesterolului în ficat şi majorarea excreţiei prin bilă; creşterea activităţii enzimelor ce catalizează scindarea lipidelor şi micşorarea celor ce intensifică sinteza cu diminuarea acumulării colesterolului în ficat; micşorarea manifestărilor stresului oxidativ prin inhibarea formării radicalilor liberi de către sistemul citocromului CYP2E1 (efect antioxidant); restabilirea sistemelor enzimatice membranare (citocromoxidaza membranară) şi a receptorilor; ameliorarea funcţiilor mitocondriilor şi microzomilor; inhibarea sintezei colagenului prin stimularea colagenazei (Звягинцева Т.Д. и др., 2008).

La pacienţii cu steatohepatită non-alcoolică (SHNA) preparatul esenţiale a contribuit la ameliorarea sindromului dispeptic, asteno-vegetativ, algic, citolitic şi colestatic, diminuarea indicelui masei corporale, hepatomegaliei, normalizarea metabolismului lipidic şi glucidic, micşorarea intensităţii POL şi activarea verigii neenzimatice a sistemului antioxidant (Звягинцева Т.Д. и др., 2008).

Scripnik I.N. (2009) la pacienţii supuşi tratamentului cu preparate antitumorale (adriablastină, fludarabină, ciclofosfamidă etc.) a constatat dezvoltarea hepatitei medicamentoase manifestate prin hepatomegalie, sindromul asteno-vegetativ, dispeptic, citolitic, colestatic şi inflamaţiei mezenchimale, activarea POL şi micşorarea activităţii sistemului antioxidant. Tratamentul acestor pacienţi timp de 1,5 luni cu esenţiale N şi esenţiale forte N a contribuit la o dinamie pozitivă a tabloului clinic, parametrilor biochimici, precum şi la reducerea POL şi creşterea activităţii sistemului antioxidant. Concomitent s-a constatat amplificarea funcţiei detoxicante a ficatului relevată prin diminuarea nivelului moleculelor medii şi creşterea activităţii arginazei. În acelaşi timp s-a menţionat că tratamentul timp de 1,5 luni nu a contribuit la normalizarea parametrilor studiaţi, fapt ce a sugerat de a prelungi utilizarea preparatelor pe o durată de 3 luni şi/sau majorarea dozelor (Губергриц Н.Б., 2008, Скрипник И.Н., 2009). Date similare au fost relatate şi la pacienţii cu hepatite virale şi alcoolice asociate, când doza de esenţiale s-a majorat până la 4,5 g/zi. În baza analizei rezultatelor obţinute şi a celor din literatură s-a concluzionat că în afectarea hepatică medicamentoasă, inclusiv cu chimioterapice antitumorale, se constată o leziune de tip hepatocelular prin activarea POL pe fundalul reducerii activităţii sistemului antioxidant şi funcţiei de detoxicare a ficatului. În acest context, preparatele ce conţin FE se consideră remedii de elecţie care necesită a fi utilizate în doze majore pe un termen lung (peste 3 luni) pentru a obţine un efect hepatoprotector manifest (Губергриц Н.Б., 2008, Скрипник И.Н., 2009).

Preparatele ce conţin FE se pot diviza în monocomponente şi combinate. Monopreparatele sunt prezentate prin lecitină (fosfolip), lipină, fosfatidilcolină (mega-lipin), iar cele combinate prin esenţiale (FE+vitaminele B,PP,E, acizi graşi nesaturaţi), esenţiale forte (FE+complex de vitamine), lipofen (FE+vitaminele $B_1$, $B_6$,E şi flacumină), lipin (lipina în liposomi+mefenamat de aluminiu), livalivin forte (FE+vitaminele B, PP,E , ulei de soie şi floarea soarelui), esavir (lecitină+vitaminele B, E, PP), eslidin (FE+metionină), fosfogliv (FE+glicirizină), esfogran (FE+aspartat de potasiu), esentin (FC+vitaminele B, PP,E), lipostabil (FE+vitamina $B_6$, PP, adenozin monofosfat), livolin (lecitină+vitaminele B,PP), hepagard (lecitină+vitamina E), livolact (FE+lactuloza), rezalut pro (FE cu conţnut înalt de acizi graşi nesaturaţi linoleic, linoleinic), esliver forte (FE+vitaminele B, PP, E) etc.

Lecitina (fosfolip) conţine suma fosfolipidelor esenţiale din soie, reprezentate prin fosfatidilcolină (FC), fosfatidiletanolamină (FEA), fosfatidilinozitol (FIL), fosfatidil serină (FS) şi acidul linoleic. Preparatul s-a dovedit efectiv în steatoza hepatică de diferită geneză, hepatitele toxice, medicamentoase, alcoolice şi imune, ciroza hepatică, boala actinică, toxicoza gravidelor (Журавель Е.В., Дороговоз С.М., 1998, Ушкалова Е.А., 2003, 2004).

Lipina reprezintă FC liofilizată din ouă în liposomi şi manifestă efect antioxidant, antihipoxant, detoxicant, antiinflamator şi hepatoprotector. Studiile clinice au demonstrat eficacitatea preparatului în hepatitele acute şi cronice active, colecistita cronică acalculoasă şi ciroza hepatică, precum şi pentru corecţia dereglărilor funcţiei ficatului şi organelor tubului digestiv în ftiziopulmonologie, gastroenterologie, cardiologie şi terapia intensivă (Ушкалова Е.А., 2004, Новиков В.Е., Климкина Е.И., 2005).

Lipofenul a manifestat efect hepatoprotector în hepatita experimentală indusă prin etanol şi tetraclorura de carbon prin acţiunea antioxidantă, restabilirea activităţii funcţionale a mitocondriilor şi microzomilor (Новиков В.Е., Климкина Е.И., 2005).

Esliver forte a demonstrat efect benefic în tratamentul maladiilor hepatice şi afecţiunile reactive ale ficatului din maladiile somatice, sindromul metabolic etc. Concomitent s-a dovedit posibilitatea şi necesitatea asocierii cu metionină în boala alcoolică a ficatului, cu acidul ursodezoxicolic în litiaza biliară, cu interferonii în hepatitele virale B şi C, cu statinele în steatoza hepatică şi SHNA (Щербинина М.В., 2009).

Preparatul rezalut pro reprezintă un remediu similar multor produse ce conţin FE şi îndeosebi FC (76%), dar obţinut printr-o tehnologie mai avansată (Успенский Ю.П., 2009). În componenţa preparatului sunt absenţi unii coloranţi şi stabilizatori, pentru prelucrarea biomasei folosindu-se nu oxigenul, ci azotul lichid. Acest procedeu tehnologic permite de a omite formarea hidroperoxizilor, produse potenţial periculoase.

Eslidinul reprezintă un preparat combinat dintre FE şi metionină. Ultima manifestă şi potenţează efectul detoxicant, anabolic, lipotrop şi hepatoprotector al FC.

În cazul preparatelor ce conţin FE e necesar de menţionat un moment foarte important ce ţine de prezenţa în componenţa preparatului a FC sau a fosfolipidelor sumare din soie. În fosfolipidele sumare se conţin doar 45-55% FC, iar restul fosfolipidelor sunt reprezentate de FEA,FIL, FS, acizi fosfotiolici etc. În astfel de preparate se discută şi prezenţa unor substanţe de natură nelipidică, precum şi a indicelui de oxidare a FC (nu trebuie să depăşească 0,25), care denotă despre gradul de oxidare al legăturilor duble ale acizilor graşi. Discuţii importante au loc referitor la calitatea FE ca component de bază şi esenţial al preparatelor respective deoarece studiile fizico-chimice prin metode contemporane denotă că la prepararea genericilor deseori se utilizează materia primă necalitativă, nepurificată, iar cantitatea componentelor, de exemplu, a vitaminelor depăşeşte cu mult cele indicate în componenţă (Швец В.И. и др., 2007, Губергриц Н.Б., 2008).

O altă problemă reprezintă componentele preparatelor combinate ale FE. Astfel, prezenţa vitaminelor poate diminua tolerabilitatea FE, creşte incidenţa reacţiilor adverse (diaree, reacţii alergice, colestaza), limita majorarea dozelor FE şi durata tratamentului, imposibilitatea utilizării vitaminelor la bolnavii cu hipersensibilitate şi pericol de hipervitaminoze. Din aceste considerente se preferă preparatele monocombinate (Новиков В.Е., Климкина Е.И., 2005, Губергриц Н.Б., 2008).

La modelarea afecţiunii hepatice prin alcool la şoricei s-a constatat hepatomegalie, creşterea nivelului trigliceridelor, activităţii AsAT, AlAT, iar histologic s-a determinat steatoză macroveziculară, necroză focală a hepatocitelor şi infiltrarea cu celule inflamatoare – neutrofile (Okiyama W et al., 2009). Utilizarea FC nu a influenţat hepatomegalia şi nivelul trigliceridelor, dar a redus semnificativ activitatea transaminazei şi hepatitei. Autorii au constatat că FC nu a influenţat concentraţia alcoolului în sânge şi nici activitatea alcooldehidrigenazei şi aldehiddehidrogenazei, dar a normalizat expresia majorată a CYP 2E1 printr-un mecanism posttranscripţional. Ulterior s-a demonstrat că FC reduce stresul oxidativ indus de alcool prin micşorarea producerii speciilor reactive ale oxigenului fără a influenţa sau restabili deficitul enzimelor antioxidante (SOD, GPx, GST). În acelaţi timp, FC inhibă capaitatea speciilor reactive ale oxigenului de a induce activarea unor chinaze ale sresului oxidativ (chinaza ce reglează apoptoza (ASK-1), p38 protein-chinaza mitogen-activatoare (p38MAPK) şi fosfatidilinozitol chinaza-3). Fosfatidilcolina normaliza nivelul factorului nuclear NF-LB în nucleul hepatocitelor tratate cu etanol, iar ca consecinţă şi inducţia genelor TNF-alfa, IL-1beta, COX-2, NOSi, moleculei intracelulare de adeziune (ICAM-1) şi proteinei de chemotaxis a monocitelor (MCP-1), ce s-a soldat cu micşorarea inflamaţiei (Okiyama W.et al., 2009). Fosfatidilcolina a diminuat apoptoza hepatocitelor manifestată prin absenţa citocromului c în citoplasmă, normalizarea permeabilităţii membranei mitocondriale, diminuarea activităţii capsazei 3, dar nu influenţa expresia proteinelor antiapoptotice. La şoricei cu intoxicaţie cronică cu etanol FC inhiba fibroza perisinusoidală, expresia citochinelor profibrotice, precum alfa-actina musculaturii netede, un indicator al activităţii celulelor stelate hepatice (Okiyama W.et al., 2009).

Analiza rezultatelor obţinute le-a permis autorilor de a elucida aspecte noi ale efectului antioxidant al FC, precum formarea speciilor reactive ale oxigenului cauzate de CYP 2E1 şi alte enzime, fapt esenţial în reglarea mai multor căi de transducţie activate de etanol. Datele relatate permit de a considera posibilă utilizarea FC în tratamentul maladiilor hepatice cronice însoţite de stresul oxidativ – hepatita alcoolică, SHNA, hepatita cronică C (Okiyama W.et al., 2009).

Tratamentul cu esenţiale al animalelor cu hepatită toxică indusă prin paracetamol s-a soldat cu normalizarea activităţii AlAT, nivelului bilirubinei şi proteinelor, în timp ce activitatea AsAT şi FA se micşora, iar coeficientul de glucuronizare al bilirubinei se majora. Preparatul normalizează fosforilarea oxidativă fără a influenţa viteza respiraţiei (Коршунов Д.А., 2009).

Utilizarea FE în tratamentul maladiilor cronice ale ficatului sunt datorate efectului membranostabilizator, antioxidant, metabolic, antiinflamator şi antifibrotic (Ильченко Л.Ю., 2008). Autoarea menţionează că efectul antiinflamator şi antifibrotic se manifestă la o utilizare timp de 6-12 luni.

Preparatele fosfolipidelor esenţiale în steatohepatita alcoolică sunt argumentate datorită micşorării activităţii parametrilor biochimici, intensităţii POL (ca verigă patogenetică), procesului inflamator şi fibrotic, reducerea nivelului endotoxemiei şi accelerarea eliminării metaboliţilor toxici cu creşterea calităţii vieţii (Ильченко Л.Ю., 2008).

În tratamentul SHNA, de rând cu mecanismele de acţiunea a FE în steatohepatita alcoolică, este importantă şi inhibarea colesterolaciltransferazei care micşorează acumularea colesterolului în ficat. În hepatitele de etiologie mixtă (metabolice+alcoolice) s-a constatat creşterea eficacităţii la asocierea cu metformina, însă în acest caz FE acţionează mai eficient asupra verigii patogenetice indusă de alcool (Ильченко Л.Ю., 2008).

Eficacitatea FE în tratamentul SHNA este datorată menţinerii fluidităţii şi structurii membranelor celulare, acţiunii antioxidante, protecţiei enzimelor mitocondriale şi microzomiale de afectare, creşterii activităţii colagenazei cu diminuarea sintezei colagenului (Маев И.В., Дичева Д.Т., 2010).

Fosfolipidele esenţiale au manifestat eficacitate în hepatitele medicamentoase cauzate de substanţele psihoactive, compuşi organofosforici şi halogenaţi, ciuperci. În aceste cazuri e necesar de identificat forma hepatitei toxice (citolitică, colestatică sau mixtă) care va determina selectarea adecvată a hepatoprotectoarelor. În cazul FE e necesar de reţinut că preparatele pot agrava colestaza şi uneori colelitiaza (Ильченко Л.Ю., 2008).

Preparatele fosfolipidelor esenţiale pot fi utilizate în tratamentul complex al hepatitelor virale deoarece amplifică eficacitatea terapiei antivirale şi micşorează frecvenţa şi intensitatea reacţiilor adverse ale acesteia (Ильченко Л.Ю., 2008).

Preparatele FE, până la apariţia remediilor etiotrope, erau folosite în tratamentul hepatitelor virale cu micşorarea duratei acutizărilor maladiei, normalizarea activităţii transaminazelor şi tabloului morfologic, dar fără date concludente despre evoluţia viremiei din care considerente farmacoterapia cu esenţiale era considerată patogenetică. Din aceste motive FE se consideră preparate de elecţie când terapia etiotropă este contraindicată sau când nu este accesibilă pentru pacient. În cazul asocierii cu interferoni şi preparatele sintetice, FE pot amplifica eficacitatea şi inofensivitatea preparatelor antivirale, inclusiv prin preîntâmpinarea acţiunii hepatotoxice (Самарин Д.В., 2008).

În cazul preparatelor fosfolipidelor esenţiale e necesar de remarcat un şir de momente precum: capacitatea de a induce colestază; biodisponibilitatea redusă la administrarea internă (în componenţa chilomicronilor prin sistemul limfatic ocolesc ficatul şi ajung în ţesutul adipos unde se metabolizează); la administrarea parenterală sunt transportate şi în alte organe şi sisteme fără să ajungă în ficat; componenţa variată a formelor medicamentoase. În preparatele fosfolipidelor esenţiale se poate menţiona cantitatea de fosfatidilcolină (FC) sau fosfolipidele sumare din soie (conţin FC, fosfatidiletilendiamină, fosfatidilinozitol, fosfatidilserină, acizi fosfatiolici), iar în unele cazuri prezenţa substanţelor de natură nelipidică şi indicele de oxidare a FC (Губергриц Н.Б., 2008, Морозов С.В., Кучерявый Ю.А., 2011).

Analiza datelor literaturii denotă despre un regim destul de variat care reflectă în mare parte rezultatele neunivoce. Actualmente, fosfolipidele esenţiale se recomandă iniţial intravenos câte 10-20 ml, apoi câte 2 capsule de 3 ori/zi nu mai puţin de 3 luni (Морозов С.В., Кучерявый Ю.А., 2011).

**Eplirul** reprezintă un hepatoprotector ce conţine un nou tip de fosfolipide obţinut din lipidele polare ale depourilor cu un grad înalt de mineralizare. Activitatea biologică a preparatului este determinată de componenţii săi: fosfolipide, sulfolipide, tioli şi pigmenţi carotinoizi specifici (Саратиков А.А. и др., 2002б Венгеровский А.И., 2002, Новиков В.Е., Климкина Е.И., 2005). Eplirul, datorită infiltrării fosfolipidelor în membranele celulare ale hepatocitelor afectate, preîntâmpină steatoza hepatică, ameliorează potenţialul energetic şi sinteza glicogenului, creşte funcţia excretoare a ficatului, amplifică conjugarea bilirubinei cu acidul glucuronic. Prezenţa tiolilor contribuie la sinteza glutationului (GSH). Preparatul a demonstrat eficacitate în hepatitele toxice acute experimentale (paracetamol, tetraclorură de carbon, tetraciclină, D-galactozamină) prin anihilarea sindromului de citoliză, dereglărilor metabolice şi necrozei hepatocitelor. Studiile clinice s-au soldat cu eficacitatea eplirului în tratamentul hepatitelor toxice acute şi cronice, hepatitele alcoolice şi de altă geneză, însă în practica medicală se utilizează preponderent în hepatitele cronice (Саратиков А.А. и др., 2002, Венгеровский А.И., 2002, Новиков В.Е., Климкина Е.И., 2005).

**Fosfoglivul** este un hepatoprotector ce conţine FE şi acid glicirizinic sau glicirizină. Efectul terapeutic este asigurat de ambii componenţi. Acidul glicirizinic manifestă:

- efect imunomodulator prin: stimularea formării limfocitelor T, chilerilor naturali (NK) şi anticelulelor T tip 2 extratimice; creşterea producerii interferonului-gama de limfocitele T şi NK şi a sintezei anticorpilor; modularea imunităţii nespecifice; majorarea sintezei IL-12 şi ulterior a interferonului-gama etc.;
- efect antiinflamator prin: inhibarea proteinchinazei C cu restabilirea răspunsului imun şi anihilarea procesului inflamator; acţiune pseudocortizonică datorită structurii asemănătoare cu hidrocortizonul şi prednizolonul; preîntâmpinarea eliberării din lizozomi a enzimelor proteolitice şi a fosfatazelor acide; blocarea activităţii fosfolipazei $F_2$ iniţiată de proteinchinaza C;
- efect antioxidant prin: inhibarea proteinchinazei C responsabilă de iniţierea POL prin fosforilarea 5-lipooxigenazei; cuplarea prooxidantului prostaglandina $E_2$; inactivarea în hepatocite a enzimelor ce iniţiază POL;

- efect antiviral prin: aderarea la suprafaţa virusurilor (membrana externă ce conţine glicopeptide sau compuşi lipoizi) cu formarea unui înveliş şi inactivarea lor; ocuparea receptorilor celulei gazdă cu împiedicarea penetrării virusurilor în celulă; influenţa asupra proceselor intracelulare prin împiedicarea eliberării particulelor virale replicate sau componentelor virusurilor, activarea NK-celulelor şi formarea celulelor T extratimice şi inhibarea replicării virale la stadiile precoce; iniţierea producerii interferonului-gama; blocarea eliberării TNF-alfa;
- efect hepatoprotector prin: captarea intensivă de hepatocite şi protecţia membranelor; acţiunea antioxidantă, blocarea expresiei CYP2E1; stimularea sintezei ADN şi proliferării hepatocitelor (Новиков В.Е., Климкина Е.И., 2005, Ипатова О.М., 2005).

În studiile experimentale (hepatita toxică indusă prin $CCl_4$) s-a constatat capacitatea preparatului fosfogliv de a creşte sinteza ADN, preponderent pe baza fracţiei ribozomale, albuminelor, ADN mitocondrial cu normalizarea funcţiilor celulare, inclusiv a mitocondriilor, de a diminua modificările histologice şi histochimice (majorarea indicelui mitotic, amplificarea proceselor reparative). Fosfoglivul în cazul hepatitelor cronice şi cirozei, induse prin $CCl_4$, a manifestat efect hepatoprotector şi antifibrotic (Новиков В.Е., Климкина Е.И., 2005, Ипатова О.М., 2005).

Fosfoglivul şi, îndeosebi, fosfoglivul forte în afecţiunea hepatică indusă prin indometacină a contribuit la: diminuarea şi/sau normalizarea activităţii AlAT, FA şi nivelului fibrinogenului; anihilarea în mare parte a dereglărilor morfologice; amplificarea proceselor reparative; atenuarea imunodeficienţei umorale şi celulare; micşorarea proceselor POL (conţinutului cetodienilor, dialdehidei malonice) cu restabilirea activităţii sistemului antioxidant (catalazei) (Кедровская Н.А., Белоконова О.В., 2009, Кедровская Н.А., 2009). Autorii consideră că FE joacă rolul principal în acţiunea hepatoprotectoare, iar acidul glicirizinic – în cea imunomodulatoare cu un sinergism al acestora în asigurarea eficacităţii preparatului faţă de hepatotoxicitatea indometacinei.

Utilizarea preparatului fosfogliv la pacienţii cu hepatită virală C cronică s-a soldat cu micşorarea concentraţiei acizilor graşi şi trigliceridelor în sânge, majorarea sintezei LDL fără a modifica HDL, dovadă a micşorarii aterogenităţii plasmei. Tratamentul complex cu fosfogliv a contribuit la o reducere mai evidentă a conţinutului bilirubinei şi activităţii transaminazelor. Concomitent s-a constatat doar o reducere a viremiei, ceea ce indică la necesitatea prelungirii tratamentului până la 12-18 luni (Ситников И.Г. и др., 2009). Autorii menţionează că în studiile experimentale s-au depistat dereglări importante ale statutului hormonal şi al mediatorilor, metabolismului lipidic şi energetic, precum şi ale proceselor sintetice în ficat. Activarea POL contribuie la majorarea conţinutului acizilor graşi saturaţi în fosfolipidele membranare. Ca rezultat se modifică proprietăţile fizico-chimice ale membranelor cu creşterea vâscozităţii, permeabilităţii, micşorarea elasticităţii şi fluidităţii. Majorarea vâscozităţii fazei lipidice este urmată de diminuarea vitezei proceselor enzimatice cu dereglarea funcţiei de barieră a membranelor. Rezultatele relatate au demonstrat despre o activitate hepatoprotectoare marcată a fosfoglivului cu inhibarea dezvoltării proceselor destructive şi dereglărilor metabolice în ficat cu intensificarea funcţiei sintetice şi proceselor reparative. Normalizarea parametrilor metabolismului lipidic va diminua steatoza hepatică indusă de virusuri ce ameliorează pronosticul şi eficacitatea tratamentului. Datele relatate permit a recomanda fosfoglivul (1-2 capsule de 3 ori/zi timp de 3-6 luni) în tratamentul steatozei hepatice la bolnavii cu hepatită virală C cronică şi a considera preparatul ca un remediu etiopatogenetic.

**Hepatoprotectoare sintetice**

**Antralul** reprezintă un compus al aluminiului cu acidul aminocarbonic ce manifestă proprietăţi hepatoprotectoare, antioxidante, detoxicante, angioprotectoare, antiinflamatoare, imunoreglatoare şi analgezice (Фролов В.М. и др., 2003, Новиков В.Е., Климкина Е.И., 2005, Дороговоз С.М., Щекина Е.Г., 2008, Звягинцева Т.Д., Чернобай А.И., 2009).

Efectul antioxidant este determinat de prezenţa grupei oximetil în poziţia N a inelului benzoic. Preparatul inhibă procesele POL, neutralizează radicalii liberi în sânge şi ţesuturi, creşte activitatea sistemului antioxidant şi nivelul ubichinonei (Звягинцева Т.Д., Чернобай А.И., 2009).

Efectul hepatoprotector al antralului este asigurat de acţiunea antioxidantă, majorarea nivelului glicogenului în ficat, creşterea sintezei proteinelor şi fosfolipidelor, restabilirea funcţiei sintetice şi lipotrope a ficatului, micşorarea permeabilităţii membranelor hepatocitelor, celulelor Kupffer şi stimularea proceselor reparative (Звягинцева Т.Д., Чернобай А.И., 2009).

În acţiunea antioxidantă şi hepatoprotectoare un rol important îi revine aluminiului datorită concurenţei cu ionii de fier cu inhibarea acumulării Fe în ficat şi diminuarea influenţei lui prooxidante asupra POL (inhibă POL fier-ascorbat-dependentă) (Дороговоз С.М., Щекина Е.Г., 2008).

Efectul detoxicant poate fi explicat prin activarea sistemului citocromului, normalizarea respiraţiei tisulare, fosforilării oxidative, proceselor energetice şi monooxigenazelor hepatocitelor cu intensificarea proceselor metabolice, conjugării şi funcţiei de detoxicare a ficatului (Звягинцева Т.Д., Чернобай А.И., 2009).

Efectul antiimflamator este atribuit conţinutului de acid mefenamic ce inhibă ciclooxigenaza cu micşorarea sintezei prostaglandinelor şi altor eicosanoide ce contribuie la stabilizarea membranei lizozomale. Concomitent se inhibă degranularea bazofilelor, migrarea celulelor în focarul inflamator cu diminuarea permeabilităţii membranelor hepatocitelor şi respectiv a citolizei şi destrucţiei (Дороговоз С.М., Щекина Е.Г., 2008, Звягинцева Т.Д., Чернобай А.И., 2009).

Efectul imunomodulator al antralului este determinat de capacitatea acidului mefenamic de a majora conţinutul calciului în limfocitele T, stimularea funcţiei fagocitare a neutrofilelor şi macrofagelor, creşterea eliberării interferonului endogen. Preparatul restabileşte nivelul imunoglobulinelor, normalizează componenţa şi indicele imunoreglator al limfocitelor T, reduce nivelul complexelor imunocirculante (îndeosebi a peptidelor cu masă moleculară medie) ceea ce contribuie la micşorarea endotoxicozei metabolice (Дороговоз С.М., Щекина Е.Г., 2008, Звягинцева Т.Д., Чернобай А.И., 2009).

Utilizarea antralului în tratamentul complex al pacienţilor cu hepatite toxice a contribuit la ameliorarea simptomelor subiective, micşorarea hepatomegaliei, icterului şi normalizarea parametrilor biochimici (Фролов В.М. и др., 2003, Звягинцева Т.Д., Чернобай А.И., 2009).

La bolnavii cu hepatită alcoolică cronică ce au folosit în schemele terapeutice antralul s-a constatat o ameliorare a tabloului clinic (dispariţia acuzelor, micşorarea dimensiunilor ficatului, splinei, icterului intoxicaţiei endogene), parametrilor biochimici (diminuarea şi/sau normalizarea activităţii AsAT, AlAT, FA, GGTP, nivelului bilirubinei, proteinelor, albuminelor), indicilor metabolismului energetic (majorarea ATP, micşorarea lactatului, piruvatului), parametrilor POL (reducerea dialdehidei malonice, cetotrienilor) şi a sistemului imun (creşterea limfocitelor T şi T-helperilor, micşorarea nivelului complexelor imunocirculante, intensificarea activităţii fagocitare a neutrofilelor şi macrofagelor) (Фролов В.М. и др., 2003, Звягинцева Т.Д., Чернобай А.И., 2009).

Studiile clinice au demonstrat eficacitatea antralului în tratamentul complex al pacienţilor cu hepatite virale la adulţi şi copii. Astfel, s-a constatat că preparatul micşora durata perioadei icterului, hiperbilirubinemiei şi hiperfermentemiei, iar în perioada de reconvalescenţă nu s-au depistat cazuri de evoluţie lentă şi alternantă. Aceste date au permis de a argumenta posibilitatea utilizării antralului cu scop curativ şi profilactic în caz de epidemii ale hepatitelor A şi E. În aceste situaţii preparatul a contribuit la ameliorarea evoluţiei hepatitei, diminuarea perioadei toxicozei şi icterului, accelerarea însănătoşirii pacienţilor. S-au relevat de asemenea efecte benefice în dinamica metabolismului energetic şi parametrilor imunologici (creşterea nivelului interferonului), fapt ce explică efectul profilactic al antralului. Date similare au fost relatate şi referitor la utilizarea preparatului în tratamentul hepatitei virale B, hepatitei cronice toxice la mineri, hepatitei cronice şi cirozei la copii (Фролов В.М. и др., 2003, Новиков В.Е., Климкина Е.И., 2005).

**Tiotriazolina.** Tiotriazolina reprezintă un preparat sintetic cu influenţă asupra proceselor metabolice ce manifestă efect antioxidant, metabolic, antiischemic, membranostabilizator, antiaritmic, hipolipemiant, imunomodulator, antiinflamator, hepatoprotector, cardioprotector şi neuroprotector (Новиков В.Е., Климкина Е.И., 2005, Мазур И.А. и др., 2005, 2006, Беленичев И.Ф. и др., 2007, Савченкова Л.В. и др., 2008, Степанов Ю.М. идр., 2010).

***Efectul antioxidant*** al tiotriazolinei se reduce la activarea enzimelor antioxidante (SOD, catalazei, GPx), utilizarea economă a antioxidanţilor endogeni (alfatocoferolului) şi inhibarea formării produselor intermediare şi finale ale POL (CD, DAM, CT), precum şi proceselor de modificare oxidativă a proteinelor (Мазур И.А. и др., 2005, 2006, Беленичев И.Ф. и др., 2007, Савченкова Л.В. и др., 2008). Astfel, s-a constatat capacitatea preparatului de a capta speciile reactive ale oxigenului (SRO) ce se formează la etapele iniţiale ale oxidării radicalice în procesele patologice experimentale. În aceste condiţii s-a demonstrat că tiotriazolina reduce concentraţia radicalului superoxid ($O_2^-$) şi peroxinitritului ($ONOO^-$) (Беленичев И.Ф. и др., 2007). Acest efect este datorat prezenţei în moleculă a grupei SH ce conferă substanţei proprietăţi reductoare marcate şi capacităţi de a accepta de la SRO electroni cu trecerea atomului de sulf de la starea bivalentă la cea tetravalentă. Tiotriazolina concomitent inhibă şi principalele căi de formare a SRO. Preparatul, în primul rând, blochează formarea acestora în mitocondrii prin utilizarea formelor reduse ale piridinnucleotidelor şi menţinerea producerii energiei prin oxidare, iar în al doilea rând, prin influenţa asupra reacţiei xantinoxidazice datorită normalizării metabolismului nucleotidelor adenilice şi inhibarea oxidării xantindehidrogenazei în xantinoxidază sub acţiunea SRO (Беленичев И.Ф. и др., 2007). Tiotriazolina inhibă formarea SRO în mitocondrii prin acţiunea directă asupra sistemului NADH oxidazic, confirmate *in vitro*, precum şi datorită diminuării influenţei stimulatoare a acidozei metabolice asupra formării SRO. Preapartul, prin micşorarea hiperproducerii de $O_2^-$ şi $ONOO^-$ preîntâmpină modificarea oxidativă a structurilor proteice ale receptorilor, canalelor ionice, factorilor de transcripţie etc. (Беленичев И.Ф. и др., 2007, Савченкова Л.В. и др., 2008).

Una din verigile importante ale efectului antioxidant o constituie acţiunea protectoare a tiotrioazolinei asupra grupelor SH ale fragmentelor cisteinice şi metioninice ale moleculelor proteice. Preparatul concurează pentru aceste structuri cu $O_2^-$ cu preîntâmpinarea modificării lor reversibile şi ireversibile. În aşa fel se evită formarea punţilor disulfidice în sediile cisteinice ale Na/K-ATP-azei, creşte sensibilitatea enzimei la acţiunea reglatoare a ATP. Tiotriazolina prin împiedicarea formării legăturilor disulfidice în moleculele xantindehidrogenazei blochează trecerea ei în xantinoxidază şi producerea de SRO (Беленичев И.Ф. и др., 2007).

Acţiunea antioxidantă a tiotriazolinei este determinată şi de preîntâmpinarea modificărilor ireversibile ale grupelor SH ale unor molecule proteice sub influenţa SRO. Astfel, preparatul inhibă formarea grupelor sulfoxidice şi sulfonice care ulterior uşor se oxidează. Tiotriazolina prin blocarea modificării ireversibile a grupelor SH a fragmentelor cisteinice ale moleculelor proteice, normalizează echilibrul balanţei redox/oxidare în condiţiile stresului oxidativ (Беленичев И.Ф. и др., 2007, Савченкова Л.В. и др., 2008).

Tiotriazolina considerabil preîntâmpină dereglările sistemului tiolic la hiperproducerea SRO şi indirect asigură transmiterea semnalului celular prin complexul receptor-canale ionice, menţinerea activităţii proteinelor, enzimelor, factorilor de transcripţie şi integrităţii membranei celulare (Мазур И.А. и др., 2005, 2006, Беленичев И.Ф. и др., 2007). Preparatul *in vitro*, la modelarea stresului oxidativ preîntâmpină oxidarea cisteinei în cisteinsulfoxid şi formarea $ONOO^-$. Astfel, tiotriazolina inhibă inactivarea ireversibilă a factorului de transcripţie NK-kB, protejând de SRO reziduurile cisteinei în domeniul ADN de cuplare. În afară de aceasta, preparatul poate contribui la reducerea acestor grupe în cazul inactivării reversibile, atribuindu-şi rolul de redox factor-1 (Беленичев И.Ф. и др., 2007).

Tiotriazolina, inhibând inactivarea factorului de transcripţie NK-kB la surplusul de SRO, posibil, intensifică activarea expresiei genelor redox-sensibile, necesare pentru protecţia celulelor de efectele toxice ale stresului oxidativ. Printre aceste gene sunt şi cele responsabile de sinteza SOD, fapt constatat în studiile experimentale prin creşterea activităţii SOD în condiţii de ischemie şi alte stări extremale. Un alt mecanism ce explică majorarea activităţii SOD se reduce la protecţia tiotriazolinei complexului metaloproteic al SOD de surplusul peroxinitritului (Беленичев И.Ф. и др., 2007).

Efectul antioxidant stă la baza acţiunii antiapoptotice a tiotriazolinei prin menţinerea echilibrului tioredoxină oxidată - tioredoxină redusă în condiţiile hiperproducerii SRO cu micşorarea acumulării formei oxidate. Această acţiune se datorează proprietăţii preparatului de a menţine balanţa tiosulfidică atât prin concurenţa directă cu $O_2^-$ şi $ONOO^-$ pentru compuşii tiolici, cât şi prin activarea sistemului GPx-GR (Беленичев И.Ф. и др., 2007, Савченкова Л.В. и др., 2008).

În concluzie, efectul antioxidant al tiotriazolinei se poate realiza prin următoarele mecanisme: micşorarea SRO ($O_2^-$ şi $ONOO^-$) prin interacţiunea directă, precum şi prin anihilarea căilor de formare a lor; reducerea modificărilor oxidative ale structurilor proteice ale enzimelor antioxidante, receptorilor, enzimelor; menţinerea echilibrului tiosulfidic în sistemul de reglare redox/oxidare cu creşterea sintezei enzimelor antioxidante, factorilor de transcripţie, proteinelor sistemelor de transport, care cresc rezistenţa celulelor la acţiunea factorilor extremali.

**Efectul metabolic.** Tiotriazolina exercită o acţiune importantă asupra statusului energetic al celulei, care în cele din urmă este responsabil de efectul antiischemic, membranostabilizator şi hepatoprotector (Беленичев И.Ф. и др., 2007, Савченкова Л.В. и др., 2008). S-a constatat capacitatea preparatului de a stimula procesele oxidative în ciclul Krebs, de a activa glicoliza anaerobă şi de a majora conţinutul intracelular de ATP cu stabilizarea metabolismului celular. Tiotriazolina în condiţiile ischemiei tisulare normalizează utilizarea glucozei şi glicogenului în celulă şi activitatea glucozo-6-fosfatdehidrogenazei, creşte raportul NAD/NADH şi activitatea citocrom-C-oxidazei, majorează nivelul piruvatului, malatului, izocitratului şi succinatului cu reducerea în acelaşi timp a lactatului cu diminuarea acidozei metabolice decompensate şi acţiunii ei prooxidante. Pe fundalul activării metabolismului glucidic creşte nivelul ATP cu menţinerea celui a ADP şi, ce e mai important, cu micşorarea AMP (Беленичев И.Ф. и др., 2007, Савченкова Л.В. и др., 2008).

Tiotriazolina, în condiţiile ischemiei activează în mitocondrii fosforilarea oxidativă cu intensificarea formării ATP, contribuie la utilizarea piridinnucleotidelor piridinice (NADH) cu oxidarea lor şi blocarea formării SRO. Un mecanism important este activarea căii malat-aspartat ce asigură cu protoni lanţul transportor de electroni. Concomitent, preparatul inhibă acumularea aminoacizilor liberi, stimulează sinteza ARN şi, respectiv, a proteinelor cu intensificarea proceselor de adaptare a celulei (Беленичев И.Ф. и др., 2007, Савченкова Л.В. и др., 2008).

Efectul membranostabilizator se poate manifesta faţă de celulele multor organe, precum hepatocite, cu diminuarea sindromului de citoliză (Савустьяненко А.В., 2008).

**Efectul antiinflamator** se manifestă prin stabilizarea membranei bazofilelor, mastocitelor şi eozinofilelor cu micşorarea eliberării histaminei, serotoninei şi altor substanţe biologic active. În acest caz se normalizează numărul leucocitelor, VSH, conţinutul proteinei C reactive şi acizilor sialici (Савченкова Л.В. и др., 2008).

Efectul imunomodulator se remarcă prin creşterea activităţii fagocitare a leucocitelor, normalizarea nivelului limfocitelor T, reducerea nivelului complexelor imunocirculante în sânge, majorarea sintezei imunoglobulinelor (Савченкова Л.В. и др., 2008).

Studiile experimentale au permis de a constata că tiotriazolina manifestă un spectru larg de efecte farmacologice, posedă toxicitate mică, acţiune modulatoare în normă şi patologie datorită mecanismelor universale de acţiune şi deschide perspective mari de utilizare în diferite domenii ale medicinei, inclusiv hepatologie (Мазур И.А. и др., 2005, 2006, Самогальская Е.Е., 2006. Савченкова Л.В. и др., 2008, Степанов Ю.М. и др., 2010).

În condiţii experimentale s-a constatat efectul benefic al tiotriazolinei în afecţiunile toxice ale ficatului induse prin $CCl_4$, tetraciclină, izoniazid-rifampicină, alcool, doxorubicină (Беленичев И.Ф. и др., 2007, Савченкова Л.В. и др., 2008, Степанов Ю.М. и др., 2010). În aceste modele s-a demonstrat capacitatea preparatului de a activa sinteza proteinelor, de a inhiba reacţiile inflamatoare şi citoliza hepatocitelor cu restabilirea funcţiei detoxicante, coleretice şi de sinteză.

Studiile clinice au relevat eficacitatea tiotriazolinei în tratamentul complex al pacienţilor cu hepatite şi ciroză hepatică de diferită geneză (Мазур И.А. и др., 2005, 2006, Самогальская Е.Е., 2006 Савченкова Л.В. и др., 2008, Степанов Ю.М. идр., 2010). Astfel, preparatul a contribuit la jugularea sindromului algic (mai efectiv la bolnavii cu ciroză hepatică de origine virală), dispeptic şi astenovegetativ (îndeosebi la pacienţii cu ciroză hepatică alcoolică). Concomitent s-a înregistrat diminuarea intoxicaţiei endogene (toxicitatea plasmei, nivelul moleculelor medii, complexelor imune circulante), corecţia disbalanţei POL-SAA (micşorarea produselor POL şi creşterea activităţii SOD, normalizarea catalazei) şi a parametrilor biochimici (AlAT, AsAT, FAl, bilirubinei) şi reducerea frecvenţei complicaţiilor şi a duratei spitalizării. Studiile efectuate au arătat dependenţa efectului tiotriazolinei de regimul de dozare, menţionându-se că în ciroza hepatică sunt necesare doze duble în comparaţie cu hepatitele cronice (Мазур И.А. и др., 2005, 2006, Самогальская Е.Е., 2006, Савустьяненко А.В., 2008, Савченкова Л.В. и др., 2008, Степанов Ю.М. идр., 2010).

Tiotriazolina a fost inclusă şi în tratamentul complex al pacienţilor cu cardiopatie ischemică pentru preîntâmpinarea efectului hepatotoxic al statinelor, antihipertensivelor, antiaritmicelor, antiagregantelor. Cercetările clinice au demonstrat că preparatul a contribuit la ameliorarea tabloului clinic şi sindromului de citoliză survenit pe fundalul tratamentului cu grupele respective de preparate (Савустьяненко А.В., 2008).

### Hepatoprotectoare din diverse grupe

**Acidul alfa-lipoic.** Acidul alfa-lipoic sau tioctic a fost descoperit de O.Klein şi Gunsalus C. în 1948, în 1951 a fost obţinut din ficatul de bovine, iar în 1952 s-a stabilit structura sa chimică. Acidul alfa-lipoic (AAL) se sintetizează în ficat din aminoacizii ce conţin sulf (metionină, cisteină), precum şi din acizii graşi nesaturaţi sau se asimilează din plante. În 1955 Colarusso şi Rausch pentru prima dată au prezentat date despre utilizarea clinică a AAL în tratamentul maladiilor hepatice, diabetului zaharat, aterosclerozei şi intoxicaţiilor de diferită geneză (Карлович Т.И. и др., 2008, Залялютдинова Л.Н., 2009).

Acidul alfa-lipoic are un spectru larg de efecte farmacologice. În calitate de coenzimă participă în procesele metabolice datorită capacităţii de a accepta şi ceda electroni. AAL are un rol important în metabolismul glucidic. Preparatul, de rând cu tiamin difosfatul, este o coenzimă esenţială a complexului piruvatdehidrogenazic ce asigură în celule decarboxilarea alfa-oxiacizilor. Astfel, AAL participă la trecerea lactatului în piruvat cu decarboxilarea oxidativă ulterioară a acestuia până la acetil-CoA şi reducerea acidozei metabolice. Concomitent AAL asigură transformarea în ciclul Krebs a alfa-cetoglutaratului în succinil CoA. Prin formarea acetil-CoA se accelerează transportul acetatului şi acizilor graşi din citoplasmă în mitocondrii cu oxidarea lor ulterioară (Новиков В.Е., Климкина Е.И., 2005, Карлович Т.И. и др., 2008, Залялютдинова Л.Н., 2009).

Acidul alfa-lipoic intensifică transportul glucozei în celulă cu utilizarea ei în procesele energetice, inhibă gluconeogeneza, cetogeneza şi activarea excesivă a proceselor de glicozilare (Козачок Н.Н. и др., 2003, Путинцев В.И. идр., 2005). Este utilizat pe larg în hepatologie în tratamentul SHNA, bolii alcoolice a ficatului, hepatitelor cronice, hepatitelor virale cronice, cirozei hepatice şi intoxicaţiilor (Rock C.O., 2009, Козачок Н.Н. и др., 2003, Яковенко Э.П. и др., 2005, Новиков В.Е., Климкина Е.И., 2005, Оковитый С.В., 2006, Карлович Т.И. и др., 2008, Залялютдинова Л.Н., 2009, Ткач С. М., 2009, Полунина Т.Е., Маев И.В., 2010). Eficacitatea terapeutică a AAL se datorează efectului antioxidant, detoxicant, lipotrop, antiinflamator, coleretic, spasmolitic, imunomodulator, radioprotector etc.

**Efectul antioxidant.** Acidul alfa-lipoic este un component important al sistemului antioxidant, iar acţiunea sa se explică prin capacitatea de a micşora POL (captarea radicalilor liberi şi fierului tisular liber) şi acumulării produselor lor (CD etc.); participarea la oxidarea acizilor graşi şi acetatului; preîntâmpinarea modificării proteinelor şi ADN cauzate de acţiunea glucozei şi stresului oxidativ; asigurarea homeostazei GSH şi ubichinonei (creşterea producerii de ubichinonă - $Q_{10}$); contribuie la reducerea ascorbatului în acid ascorbic şi la activarea tocoferolului (Lai Y.S.et al., 2010, Odabasoglu F.et al., 2011, Shaafi S.et al., 2011).

Acidul alfa-lipoic a contribuit la ameliorarea stresului oxidativ în aortă la şobolanii în vârstă relevată prin creşterea activităţii SOD şi micşorarea nivelului superoxidului, precun şi a manifestărilor inflamatoare în aortă cauzate de activarea NF-kB, moleculeleor de adeziune (Li L, et al., 2010).

La pretratarea şoriceilor cu doze de 35 mg/kg, acidul alfa-lipoic a contribuit la diminuarea toxicităţii metotrexatului asupra mitocondriilor prin inhibarea stresului oxidativ (creşterea POL, nivelului proteinelor carbonilice şi generarea radicalului superoxid, afectarea profilului tiolic) şi restabilirea antioxidanţilor enzimatici şi non enzimatic diminuaţi fie prin refacerea antioxidanţilor, fie prin captarea radicalilor liberi (Tabassum H.et al., 2010).

Acidul alfa-lipoic a redus în ficat degenerarea hidroptică, necroza, hiperplazia ducturilor biliare şi fibroza periportală indusă de alfatoxină. Preparatul de asemenea a micşorat severitatea atrofiei corticale a timusului, depleţia limfoidă în splină şi bursa fabricius şi degenerarea epiteliului tubilor renali. Acidul alfa-lipoic a diminuat imunoreactivitatea nitrotirozinei şi NOSi în ficat provocată de alfatoxină. Concomitent preparatul a micşorat nivelul DAM şi a crescut cel al GSH în ficat induse de toxic. Astfel, AAL, în calitate de antioxidant, a ameliorat efectele degenerative ale alfatoxinei, cauzate de intensificarea POL (Karaman V.et al., 2010).

Experienţele *in vitro* şi *in vivo* au demonstrat capacitatea AAL de a preveni stresul oxidativ indus de L-fenilalanină relevat prin inhibarea activităţii SOD, catalazei, GPx şi glucozo-6-fosfatdehidrogenazei şi diminuarea activităţii antioxidante totale, nivelului GSH şi creşterea SRO. Preparatul se poate considera un adjuvant în tratamentul pacienţilor cu fenilchetonurie (Moraes T.B.et al., 2010).

Administrarea AAL ca component dietetic contribuie la acumularea lui în ţesuturi unde sub acţiunea lipamid dehidrogenazei se transformă în acid dihidrolipoic. Studiile clinice au relevat că preparatul captează radicalul hidroxil, acidul hipocloros şi oxigenul singlet (Ghibu S.et al., 2009).

Acidul alfa-lipoic în doza de 1200 mg/zi timp de 8 zile la voluntari a crescut activitatea antioxidantă totală a plasmei, a micşorat POL şi carbonilarea proteinelor, manifestând astfel efect antioxidant (Zembron-Lacny A.et al., 2009).

Acţiunea antioxidantă a AAL, relevată prin inducerea expresiei frataxinei (o proteină mitocondrială esenţială), a fost responsabilă de efectul neuroprotector în neurotoxicitatea indusă prin paclitaxel şi cisplatină (Melli G.et al., 2008).

Acidul alfa-lipoic se consideră un antioxidant universal ce se dizolvă în apă şi lipide şi este capabil să funcţioneze pe membrana celulară şi în citoplasmă. În organism se transformă în acidul dihidrolipoic, care este mai activ decât AAL. Efectul antioxidant e determinat de prezenţa în moleculă a 2 grupe SH, precum şi de capacitatea de a capta radicalii liberi şi ionii de fier liberi în ţesuturi cu excluderea lor din procesele POL (Карлович Т.И. и др., 2008, Залялютдинова Л.Н., 2009). Mai mult de atât, AAL, nu numai că posedă efect antioxidant propriu, dar şi asigură funcţionalitatea altor verigi antioxidante în organism. Astfel, forma redusă – acidul dihidrolipoic (ADHL) – serveşte ca donator de electroni pentru reducerea acidului ascorbic, tocoferolului, GSH şi ubichinonei, iar la oxidarea masivă a membranelor asigură reciclarea tocoferolilor la epuizarea lor. Acidul alfa-lipoic majorează nivelul intra- şi extracelular al GSH în culturile celulelor T, eritrocitelor umane, celulelor gliale şi limfocitelor din sângele periferic. În doze de 150 mg/kg/zi creşte conţinutul GSH în sânge şi ficat la şobolani, efect cauzat nu numai de reducerea oxidării, dar şi intensificării sintezei lui. Acidul alfa-lipoic prin transformarea în ADHL asigură permanent micşorarea concentraţiei intracelulare de cistină şi creşterea concentraţiei cisteinei, parte componentă a GSH. Acidul alfa-lipoic şi ADHL efectiv neutralizează radicalii peroxil şi hidroxil, precum şi alţi radicali ai oxigenului (Карлович Т.И. и др., 2008).

Prezenţa grupelor tiolice contribuie la repararea moleculelor acizilor nucleici afectate de stresul oxidativ (Путинцев В.И. идр., 2005).

**Efectul detoxicant.** Acidul alfa-lipoic, prin prezenţa grupelor SH, are capacitatea de a forma complexe cu zincul, cadmiul, manganul, plumbul, cobaltul, nichelul şi fierul, precum şi a elimina din ţesuturi mercurul, cuprul şi arseniul. În studiile experimentale s-a constatat proprietatea preparatului de a reduce toxicitatea $CCl_4$ (Карлович Т.И. и др., 2008).

**Efectul lipotrop şi hipolipemiant.** Acidul alf-lipoic joacă un rol important în metabolismul lipidic prin accelerarea transportului acetatului şi acizilor graşi din citoplasmă în mitocondrii pentru oxidarea lor şi producerea coenzimei A. Aceasta contribuie la micşorarea distrofiei lipidice a hepatocitelor, stimularea funcţiei metabolice a ficatului şi accelerarea eliminării bilei. Preparatul creşte conţinutul acizilor graşi nesaturaţi, micşorează nivelul colesterolului şi acizilor graşi saturaţi cu preîntâmpinarea dezvoltării aterosclerozei (Залялютдинова Л.Н., 2009). De asemenea, AAL contribuie la mobilizarea lipidelor din ţesutul adipos cu utilizarea lor în metabolismul energetic, precum şi amplifică asimilarea glicinei, sinteza glucozei şi proteinelor în ficat.

**Efectul imunomodulator** al AAL se reduce la activarea capacităţii fagocitare a neutrofilelor şi creşterea nivelului complementului.

**Efectul antiinflamator.** Acidul alfa-lipoic a manifestat efect antiinflamator în inflamaţia acută şi cronică prin micşorarea volumului inflamator şi reglarea stresului oxidativ ce survine. Astfel, preparatul a redus capacitatea carageninei de a intensifica POL, de a diminua activitatea SOD, GPxşi GR, de a majora activitatea GST şi NOSi şi de a micşora conţinutul GSH (Odabasoglu F.et al., 2011).

**Efectul hepatoprotector.** Acidul alfa-lipoic ameliorează funcţia hepatocitelor datorită influenţei benefice asupra metabolismului glucidic, lipidic, acţiunii antioxidante, dezintoxicante, lipotrope, hipolipemiante, coleretice, spasmolitice, antiinflamatoare şi imunomodulatoare (Козачок Н.Н. и др., 2003, Путинцев В.И. идр., 2005, Карлович Т.И. и др., 2008, Залялютдинова Л.Н., 2009, Полунина Т.Е., Маев И.В., 2010). Preparatul datorită refacerii rezervelor de GSH preîntâmpină afectarea mitocondriilor, eliberarea citocromului, apoptoza hepatocitelor şi celulelor Kupffer. În acelaşi timp AAL, prin inhibarea proceselor inflamator-necrotice în ficat şi efectului antioxidant, reduce procesele de fibrozare şi riscul carcinomului hepatocircular (Путинцев В.И. идр., 2005).

În ischemia şi reperfuzia hepatică se constată dezvoltarea stresului oxidativ remarcat prin micşorarea nivelului GSH şi majorarea celui a DAM şi metaloperoxidazei în ficat asociate cu creşterea activităţii AsAT, AlAT , LDH şi conţinutului TNF-alfa, IL-1beta în ser. Acidul alfa-lipoic a manifestat efect benefic prin restabilirea parametrilor respectivi (Dulundu E.et al., 2007).

**Utilizarea AAL în hepatologie.** În patologia ficatului se constată o formare excesivă a produselor POL sau o supresie a sistemului antioxidant sau o dereglare a ambelor procese. Intensificarea proceselor oxidative ale lipidelor contribuie la acumularea produselor POL cu afectarea hepatocitelor. Radicalii peroxizici interacţionează cu moleculele acizilor graşi cu formarea hidroperoxizilor, compuşi foarte toxici, şi a altor radicali peroxizi. Conjugaţii dienici reprezintă hidroperoxizi toxici care exercită un efect detergent asupra proteinelor, enzimelor, lipoproteinelor şi acizilor nucleici (Яковенко Э.П. и др., 2005).

**Hepatitele virale.** Acidul alfa-lipoic se consideră un remediu patogenetic de primă linie în tratamentul complex al hepatitelor virale cronice B şi C (Козачок Н.Н. и др., 2003, Селюк М.Н., 2003, Путинцев В.И. идр., 2005, Карлович Т.И. и др., 2008, Залялютдинова Л.Н., 2009). Astfel, AAL se recomandă în hepatita virală C (HVC) în asociere cu interferonul alfa şi ribavirina, iar în hepatita virală B (HVB) – cu interferonul alfa şi analogii nucleozidici (Карлович Т.И. и др., 2008). În acelaşi timp preparatul, în combinaţie cu alte hepatoprotectoare, se consideră terapia de alternativă a hepatitelor virale cronice în caz de contraindicaţii sau neeficacitate a preparatelor antivirale. Unele studii clinice au relevat o eficacitate înaltă a antioxidanţilor (AAL, silimarinei, tocoferolului, acidului ascorbic etc.) în monoterapia HVC manifestată prin normalizarea transaminazelor, diminuarea încărcăturii virale şi ameliorarea tabloului histologic (Melhem A.et al., 2005).

Utilizarea timp de 4 săptămâni a AAL a contribuit la ameliorarea indicilor funcţionali ai ficatului, normalizarea activităţii enzimelor (transaminazelor, GGTP) şi nivelului bilirubinei. Aceste efecte erau îndeosebi manifeste la pacienţii cu evoluţie latentă a hepatitelor virale (Козачок Н.Н. и др., 2003, Шуляпин О.И. и др., 2003, Яковенко Э.П. и др., 2005, Эсауленко Э.В. и др., 2005). Administrarea preparatului a redus gradul de manifestare a reacţiilor adverse a interferonilor şi, în primul rând, a sindromului pseudogripal, precum şi a incidenţei hiperglicemiei şi trombocitopeniei (Карлович Т.И. и др., 2008, Залялютдинова Л.Н., 2009). Astfel, s-au acumulat date convingătoare despre capacitatea AAL de a ameliora sindromul dispeptic, citolitic şi colestatic, de a reduce semnele ultrasonografice de afectare a ficatului cu înlăturarea simptomelor encefalopatiei hepatice, corecţia dereglărilor hemodinamice (Козачок Н.Н. и др., 2003, Карлович Т.И. и др., 2008, Залялютдинова Л.Н., 2009).

**Boala alcoolică a ficatului.** Utilizarea AAL în doza de 600 mg/zi timp de 4 săptămâni a contribuit la regresia sindromului algic, citolitic şi colestatic la bolnavii cu hepatită alcoolică. Concomitent s-a constatat ameliorarea metabolismului lipidic şi glucidic cu reducerea dislipidemiei şi simptomelor encefalopatiei hepatice. În ficat se micşora gradul de distrofie a hepatocitelor şi a afecţiunilor inflamatoare-necrotice cu preîntâmpinarea dezvoltării fibrozei (Карлович Т.И. и др., 2008, Залялютдинова Л.Н., 2009).

Folosirea în tratamentul complex al AAL (600 mg/zi) la pacienţii cu hepatită alcoolică cronică şi ciroză hepatică a contribuit la o dinamie pozitivă a tabloului clinic, parametrilor biochimici, indicilor POL şi sistemului antioxidant cu ameliorarea calităţii vieţii (Хворостинка В.Н., 2004). Astfel, la bolnavi s-a depistat diminuarea sau dispariţia sindromului dispeptic, algic, asteno-vegetativ, citolitic, colestatic, inflamaţiei mezenchimale, ascitic, hepato- şi splenomegaliei. La iniţierea tratamentului s-a determinat o intensificare a POL (majorarea DAM) şi reducerea sistemului antioxidant (micşorarea activităţii SOD) care pe fundalul tratamentului cu AAL a avut o dinamie pozitivă. Se consideră că efectul benefic al preparatului este cauzat de captarea radicalilor liberi, stimularea funcţiei antitoxice a ficatului, creşterea rezistenţei hepatocitelor şi reducerea formării produselor hepatotoxice de scindare a proteinelor (Хворостинка В.Н., 2004). În hepatita alcoolică AAL manifestă efecte benefice prin diminuarea concentraţiei produselor toxice ale etanolului, reducerea formării POL, creşterea sintezei GSH şi raportului NADH/NAD (Карлович Т.И. и др., 2008).

**Boala non-alcoolică a ficatului**. Acidul alfa-lipoic, prin anihilarea dereglărilor metabolismului energetic, glucidic şi, îndeosebi lipidic (oxidarea acizilor graşi, micşorarea conţinutului substratelor pentru sinteza trigliceridelor), preîntâmpină dezvoltarea steatozei hepatice. Concomitent se reduce insulinorezistenţa şi obezitatea, factori esenţiali în dezvoltarea steatozei hepatice (Козачок Н.Н. и др., 2003, Карлович Т.И. и др., 2008). Un efect mai benefic s-a constatat la asocierea AAL cu silimarina şi seleniul, relevat prin inhibarea progresiei hepatitei şi cirozei hepatice.

Acidul alfa-lipoic este un cofactor esenţial pentru enzimele lanţului respirator al mitocondriilor ceea ce contribuie la menţinerea funcţiei acestora. Preparatul în doză de 1800 mg/zi la persoanele obeze a contribuit la o pierdere ponderală modestă, fapt ce a permis de a considera AAL ca o terapie adjuvantă la aceste persoane (Koh F-H-et al., 2011).

Utilizarea AAL timp de 4 luni în doză de 800 mg/zi la pacienţii cu predispoziţie sau cu obezitate a contribuit la micşorarea ponderii, indicelui masei corporale, presiunii arteriale şi circumferinţei abdominale. Preparatul se consideră un antioxidant efectiv în terapia obezităţii (Carbonelli M-G-et al., 2010).

**Hepatitele toxice**. Un rol important în etiologia hepatitelor toxice, de rând cu alţi factori industriali şi ai mediului, alcoolul, îl ocupă preparatele medicamentoase (Хворостинка В.Н., 2004, Яковенко Э.П. и др., 2005, Путинцев В.И. идр., 2005).

În patogeneza hepatitelor toxice un rol important îl joacă stresul oxidativ. Produsele POL afectează membrana hepatocitelor cu necroza lor, formarea mitocondriilor gigante şi activarea celulelor stelate. Ultimele sunt responsabile de intensificarea sintezei colagenului, formarea corpilor Malori şi stimularea chemotaxisului neutrofilelor. În acelaşi timp, modificările potenţialului de oxido-reducere contribuie la dezvoltarea unor perturbări metabolice: hiperlactacidemia cu acidoză; micşorarea concentraţiei acidului folic, tiaminei, cianocobalaminei, piridoxinei şi, ca consecinţă, a AAL (Хворостинка В.Н., 2004, Карлович Т.И. и др., 2008). Din aceste considerente este patogenetic argumentată utilizarea antioxidanţilor şi, în primul rând, a acidului tioctic. Administrarea AAL (600 mg/zi) în tratamentul complex al pacienţilor cu hepatite toxice (medicamentoase şi alcoolice) a contribuit la regresia de 2 ori mai rapidă a sindromului algic, dispeptic, astenovegetativ, precum şi la normalizarea sau micşorarea semnificativă a activităţii transaminazelor, fosfatazei alcaline, gamaglutamil transpeptidazei şi conţinutului bilirubinei şi fracţiei directe, colesterolului (Путинцев В.И. идр., 2005). Concomitent autorii au remarcat ameliorarea stresului oxidativ prin reducerea nivelului conjugaţilor dienici, DAM şi creşterea activităţii SOD şi catalazei.

Administrarea AAL la animalele cu proces inflamator sistemic a contribuit la normalizarea activităţii SOD, catalazei, GPx şi nivelului GSH (Карлович Т.И. и др., 2008).

Acidul alfa-lipoic a manifestat efect profilactic la administrarea dozelor toxice de adriamicină, paracetamol, cupru, arseniu, cadmiu, mercur (Карлович Т.И. и др., 2008). Autorii consideră că eficacitatea preparatului este determinată de prezenţa grupelor SH, refacerea GSH şi ameliorarea proceselor energetice în hepatocite.

La animalele cu hepatită toxică acută ($CCl_4$ 0,064 ml/100 g în doză unică intraperitoneal) la a 3-a zi se constata o citoliză maximă şi majorarea nivelului GSH în ficat de 2,8 ori. Acidul tioctic (16 şi 35 mg/kg intraperitoneal timp de 3 zile) a manifestat o tendinţă de micşorare a GSH, deşi preparatul însuşi creştea conţinutul GSH de 1,3-1,4 ori. Aceste date denotă faptul că acidul tioctic nu numai că posedă potenţial antioxidant de sine stătător, dar şi asigură funcţionarea altor verigi antioxidante în organism. În acest context, acţiunea protectoare este determinată de corelarea cu homeostaza sistemului GSH. Acidul tioctic micşora activitatea GPx şi GR în ficat, majorată de $CCl_4$. Astfel, acidul tioctic în hepatita experimentală a manifestat proprietăţi antioxidante prin influenţa benefică asupra sistemului antioxidant al GSH cu anihilarea stresului oxidativ (Волоскова А.В. и др., 2005).

Acidul alfa-lipoic la şobolanii cu hepatite toxice a normalizat nivelul GSH, activitatea GR şi GPx, izocitratdehidrogenazei şi glucozo-6-fosfatdehidrogenazei, dovadă a reglării manifestărilor stresului oxidativ şi a statutului sistemului antioxidant al GSH (Макеева А.В. и др., 2007).

**Preparatele de origine animală.** Hepatoprotectoare sub formă de hidrolizate extrase din ficatul bovinelor ce se consideră că pot manifesta efect antioxidant, detoxicant, membranostabilizator, regenerator etc. Actualmente însă nu există date convingătoare despre eficacitatea lor în tratamentul maladiilor cronice ale ficatului, de aceea, ţinând cont şi de dezavantajele pe care le au (potenţial alergic, posibilitatea infectării cu prioni, virusuri etc.) acestea nu se recomandă a fi folosite în practica medicală (Ткач С.М., 2009)

În majoritatea cazurilor, preparatele hepatoprotectoare, inclusiv cele de origine vegetală, sunt eficiente şi inofensive în profilaxia şi tratamentul maladiilor ficatului de orice geneză. Studiile experimentale, de regulă, demonstrează că substanţele studiate posedă efect membranostabilizator, antioxidant, antiinflamator, imunomodulator, detoxicant etc. argumentate prin metode contemporane la nivel molecular, funcţional şi structural. Totuşi, pentru multe hepatoprotectoare mecanismele de acţiune sunt doar presupuse ceea ce determină dificultăţi în aprecierea indicaţiilor pentru utilizare clinică. Problema se complică şi mai mult în cazul studiilor clinice când lipsesc date ştiinţifice cu un nivel înalt de dovezi prin trialuri rondomizate care să confirme efectul benefic asupra organismului uman. În majoritatea studiilor clinice se demonstrează ameliorarea tabloului clinic şi parametrilor de laborator fără date convingătoare despre evoluţia modificărilor morfologice şi indicilor virusologici. Astfel, eficacitatea clinică a multor hepatoprotectoare nu este confirmată prin medicina bazată pe dovezi. Mai mult decât atât, unele din ele s-au dovedit că posedă efect hepatotoxic. Din aceste considrente, analiza hepatoprotectoarelor trebuie efectuată în baza studiilor randomizate, iar clasificarea lor efectuată din punct de vedere al medicinei bazate pe dovezi. Astfel de abordare va permite medicilor practicieni mai obiectiv şi mai raţional de a efectua tratamentul pacienţilor cu maladii cronice ale ficatului (Ткач С.М., 2009, Бакулин И.Г., Сандлер Ю.Г., 2010, Полунина Т.Е., Маев И.В., 2010, Крамарев С.А., 2011, Морозов С.В., Кучерявый Ю.А., 2011).

Analiza datelor relatate ne permite să concluzionăm că preparatele hepatotrope utilizate actualmente în practica medicală pot fi caracterizate ca hepatoprotectoare confirmate prin medicina bazată pe dovezi (silimarina şi analogii ei, glicirizina, preparatele din anghinară, ademetionina, L-ornitin-L-aspartat, fosfolipidele esenţiale, acidul ursodezoxicolic) şi preparate ce necesită efectuarea unor studii randomizate ample care ar demonstra eficacitatea şi inofensivitatea clinică (o mare parte din remediile vegetale, preparatele sintetice, vitaminele, substanţele de origine animală etc.).

## BIBLIOGRAFIA:

1. Abenavoli L. et al., Milk thistle in liver diseases: past, present, future. Phytother Res. 2010 Oct;24(10):1423-32.
2. Adams L.A., Angulo P., Petz J.et al. A pilot trial of high-dose ursodeoxycholic acid in nonalcoholic steatohepatitis. Hepatol. Int. 2010. September. 4 (3), p. 628-633.
3. Ahmed-Belkacem A, Ahnou N, Barbotte L. et al. Silibinin and related compounds are direct inhibitors of hepatitis C virus RNA-dependent RNA polymerase. Gastroenterology. 2010 Mar;138(3):1112-22.
4. Antelava N.A. et al., [Efficacy and safety of heptral, vitamin B6 and folic acid during toxic hepatitis induced by CCL4]. Georgian Med News. 2007 Sep;(150):53-6.
5. Bergheim I., McClain C. J., Arteel G.A. Treatment of Alcoholic Liver Disease. Dig Dis. 2005; 23(3-4): 275–284.

6. Carbonelli M.G. et al. Alpha-lipoic acid supplementation: a tool for obesity therapy? Curr Pharm Des. 2010;16(7):840-6.
7. Das S., Roy P., Auddy R.G., et al Silymarin nonoparticle prevents paracetamol indice nepatotoxicity. Int. J. Nanomedicine 2011; 6: 1291-1301.
8. Dixit N., Baboota S., Kohli K. et al. Silymarin: A review of pharmacological aspects and bioavailability enhancement approaches. Indian Journal of Pharmacology, 2007, v.39, 4: p. 172-179
9. Duong F.H., Christen V, Filipowicz M., Heim M.H. S-Adenosylmethionine and betaine correct hepatitis C virus induced inhibition of interferon signaling in vitro. Hepatology. 2006 Apr;43(4):796-806.
10. Dulundu E. et al. Alpha-lipoic acid protects against hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. Pharmacology. 2007;79(3):163-70.
11. El-Kamary S.S et al. A randomized controlled trial to assess the safety and efficacy of silymarin on symptoms, signs and biomarkers of acute hepatitis. Phytomedicine. 2009 May;16(5):391-400.
12. Eminzade S., Uras F., Izzettin F.V. Silymarin protects liver against toxic effects of anti-tuberculosis drugs in experimental animals. Nutr Metab (Lond). 2008; 5: 18.
13. Feher J., Lengyel G. Silymarin in the treatment of chronic liver diseases: past and future. Orv Hetil. 2008 Dec 21;149(51):2413-2418.
14. Festi D. et al. Clinical efficacy and effectiveness of ursodeoxycholic acid in colestatic diseases. Curr. Clin. Pharmacol. 2007. May. 2 (2)., p.155-177.
15. Filipowicz M. et al. S-Adenosyl-Methionine and Betaine Improve Early Virological Response in Chronic Hepatitis C Patients with Previous Nonresponse. PLoS One. 2010; 5(11): e15492.
16. Gogolauri M.I, Antelava N.A. [Effect of heptral and folic acid on the hepatic functions during toxic hepatitis]. Georgian Med News. 2005 Jun;(123):57-60.
17. Habib-ur-Rehman M. et al. Affect of silymarin on serum levels of ALT and GGT in ethanol induced hepatotoxicity in albino rats. J Ayub Med Coll Abbottabad. 2009 Oct-Dec; 21(4):73-75.
18. Hawke R.L. et al. Silymarin ascending multiple oral dosing phase I study in noncirrhotic patients with chronic hepatitis C. J Clin Pharmacol. 2010 Apr;50(4):434-49.
19. He H. et al. Combination of retinoic acid and ursodeoxycholic acid attenuates liver injury in bile duct-ligated rats and human hepatic cells. Hepatology. 2011. Feb. 53 (2)
20. Huber R. et al. Artichoke leave extract for chronic hepatitis C - a pilot study. Phytomedicine. 2009 Sep;16(9):801-4., p.548-557.
21. Juzyszyn Z. et al. The effect of artichoke (Cynara scolymus L.) extract on ROS generation in HUVEC cells. Phytother Res. 2008 Sep;22(9):1159-61.
22. Juzyszyn Z. et al. The effect of artichoke (Cynara scolymus L.) extract on respiratory chain system activity in rat liver mitochondria. Phytother Res. 2010 Jun;24 Suppl 2:S123-8.
23. Kalhan S. et al. Methionine and protein metabolism in non alcoholic steatohepatitis: evidence for lower rate of transmethylation of methionine. Clin Sci (Lond). 2011 Mar 30. [Epub ahead of print]
24. Karaman M. et al. Pathological, biochemical and haematological investigations on the protective effect of alpha-lipoic acid in experimental aflatoxin toxicosis in chicks. Br Poult Sci. 2010 Feb;51(1), p.132-41.
25. Koh E.H. et al. Effects of alpha-lipoic Acid on body weight in obese subjects. Am

J Med. 2011 Jan;124(1):85.e1-8.

26. Küçükgergin C. et al. Effect of artichoke leaf extract on hepatic and cardiac oxidative stress in rats fed on high cholesterol diet. Biol Trace Elem Res. 2010 Jun;135(1-3):264-74.
27. Küskü-Kiraz Z. et al. Artichoke leaf extract reduces oxidative stress and lipoprotein dyshomeostasis in rats fed on high cholesterol diet. Phytother Res. 2010 Apr;24(4):565-70.
28. Lai Y.S. et al. Antiplatelet activity of alpha-lipoic acid. J Agric Food Chem. 2010 Aug 11;58(15), p.8596-8603.
29. Lee T.D. et al. Abnormal hepatic methionine and glutathione metabolism in patients with alcoholic hepatitis. Alcohol Clin Exp Res. 2004 Jan;28(1):173-81.
30. Li L. et al. Vascular oxidative stress and inflammation increase with age: ameliorating effects of alpha-lipoic acid supplementation. Ann N Y Acad Sci. 2010 Aug;1203:151-9.
31. Lieber CS. New concepts of the pathogenesis of alcoholic liver disease lead to novel treatments. Curr Gastroenterol Rep. 2004 Feb;6(1):60-5
32. Loguercio C., festi D. Silybinin and the liver: From basic research to clinical practice. Worlid J.gastroenterol. 2011 May 14; 17(18):2288-2301.
33. Lucangioli S.E. et al. Lithocholic acid as a biomarker of intrahepatic cholestasis of pregnancy during ursodeoxycholic acid treatment. Ann. Clin. Biochem. 2009. jan. 46 (Pt 1), p.44-49.
34. McClain C.J. et al. S-Adenosylmethionine, cytokines, and alcoholic liver disease. Alcohol. 2002 Jul;27(3):185-92.
35. McClain C. et al. Dysregulated cytokine metabolism, altered hepatic methionine metabolism and proteasome dysfunction in alcoholic liver disease. Alcohol Clin Exp Res. 2005 Nov;29(11 Suppl):180S-8S.
36. Matthews R.P. et al. TNFα-dependent hepatic steatosis and liver degeneration caused by mutation of zebrafish s-adenosylhomocysteine hydrolase. Development. 2009 March 1; 136(5): 865–875.
37. Medina J, Moreno-Otero R. Pathophysiological basis for antioxidant therapy in chronic liver disease. . Drugs. 2005;65(17):2445-61.
38. Melhem M.F. et al. .Alpha-lipoic acid attenuates hyperglycemia and prevents glomerular mesangial matrix expansion in diabetes. J Am Soc Nephrol. 2002 Jan;13(1):108-16.
39. Melli G. et al. Alpha-lipoic acid prevents mitochondrial damage and neurotoxicity in experimental chemotherapy neuropathy. Exp Neurol. 2008 Dec;214(2), p.276-84.
40. Menghini L et al..Antiproliferative, protective and antioxidant effects of artichoke, dandelion, turmeric and rosemary extracts and their formulation. Int J Immunopathol Pharmacol. 2010 Apr-Jun;23(2):601-10.
41. Mehmetçik G. et al. Effect of pretreatment with artichoke extract on carbon tetrachloride-induced liver injury and oxidative stress. Exp Toxicol Pathol. 2008 Sep;60(6):475-80.
42. Moraes T.B. et al. Lipoic acid prevents oxidative stress in vitro and in vivo by an acute hyperphenylalaninemia chemically-induced in rat brain. J Neurol Sci. 2010 May 15;292(1-2), p.89-95.
43. Moreno-Otero R, Trapero-Marugán M. Hepatoprotective effects of antioxidants in chronic hepatitis C. World J Gastroenterol. 2010 Apr 21;16(15):1937-8.

44. Morishima C. et al. Sylimarin inhibits in vitro T cell proliferation and cytokine production in hepatitis C virus infection. Gastroenterology, 2010, feb., 38 (2), p.671-81.
45. Odabasoglu F. et al. α-Lipoic acid has anti-inflammatory and anti-oxidative properties: an experimental study in rats with carrageenan-induced acute and cotton pellet-induced chronic inflammations. Br J Nutr. 2011 Jan;105(1), p.31-43.
46. Okiyama W. et al. Polyenephosphatidylcholine prevents alcoholic liver disease in PPARα-null mice through attenuation of increases in oxidarive stress. J.Hepatol. 2009. June. 50 (69, p.1236-1246.
47. Omata M. et al. A large scale, multicentre, double blind trial of ursodeoxycholic acid in patients will chronic hepatitis C. Gut. 2007. December. 56 (12), p.1747-1753.
48. Oz H.S., Chen T.S., Neuman M. Methionine Deficiency and Hepatic Injury in a Dietary Steatohepatitis Model. Dig Dis Sci. 2008 March; 53(3): 767-776.
49. Pathil A. et al. The synthetic bile acid-phopholipid conjugate ursodeoxycholyl lypophophatidylethanolamide suppresses TNFα-induced liver injury. J.Hepatol. 2011. Apr. 54 (5), p.674-684.
50. Polyak S.J. et al.. Inhibition of T-cell inflammatory cytokines, hepatocyte **NF-kappaB** signaling, and HCV infection by standardized Silymarin. Gastroenterology. 2007 May;132(5):1925-36.
51. Pradhan SC, Girish C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. Indian J Med Res. 2006 Nov;124(5):491-504.
52. Ramasamy K., Agrawal R. Multitargeted therapy of cancer by silymarin. Cancer Lett. 2008. October, 269 (2), p.352-362.
53. Ratziu V. et al. A randomized controlled trial of high-dose ursodeoxycholic acid for nonalcoholic steatohepatitis. J.Hepatol. 2011. May. 54 (5), p. 1011-1019.
54. Rock C.O. Opening a Ntw Path to Lipoic Acid. J.Bacteriol. 2009. Novenber. 191 (22), p.6782-6784.
55. Shaafi S. et al. Anti-oxidative effect of lipoic Acid in spinal cord ischemia/reperfusion. Med Princ Pract. 2011; 20(1), p.19-22.
56. Saito S. et al. A dose-up of ursodeoxycholic acid decreases transaminases in hepatitis C patients. Wold J.gastroenterol. 2009. June. 15 (22), p.2782-2786.
57. Sarawek S. et al. Flavonoids of Cynara scolymus possess potent xanthinoxidase inhibitory activity in vitro but are devoid of hypouricemic effects in rats after oral application. Planta Med. 2008 Feb;74(3):221-7.
58. Schümann J. et al. Silibinin protects mice from T cell-dependent liver injury. J Hepatol. 2003 Sep;39(3):333-340.
59. Tabassum H. et al. Protective effect of lipoic acid against methotrexate-induced oxidative stress in liver mitochondria. Food Chem Toxicol. 2010 Jul;48(7), p.1973-9.
60. Tolman K.G., Dalpiaz A.S. Treatment of non-alcoholic fatty liver disease. Ther. Clin. Risk Manag. 2007. December. 3 (6), p.1153-1163.
61. Wagoner J. et al.. Multiple effects of silymarin on the hepatitis C virus lifecycle. Hepatology. 2010 Jun;51(6):1912-21.
62. Wortham M. et al. The transition from fatty liver to NASH associates with SAMe depletion in db/db mice fed a methionine choline-deficient diet. Dig Dis Sci. 2008 Oct;53(10):2761-74. Epub 2008 Feb 26.
63. Zapolska-Downar D. et al. Protective properties of artichoke (Cynara scolymus) against oxidative stress induced in cultured endothelial cells and monocytes. Life Sci. 2002 Nov 1;71(24):2897-08.

64. Zembron-Lacny A. et al.. The comparison of antioxidant and hematological properties of N-acetylcysteine and alpha-lipoic acid in physically active males. Physiol Res. 2009;58(6):855-61.
65. Zhang L.X., Liang T.J., Tan Y.R. Protective effects of ursodeoxycholic acid against immune-mediated liver fibrosis in rats. Hepatogastroenterology. 2010. Sep-Oct. 57 (102-103), p. 1196-1202.Adams L.A., Angulo P., Petz J. A pilot trial of high-dose ursodeoxycholic acid in nonalcoholic steatohepatitis. Hepatol. Int. 2010. September. 4 (3), p. 628-633.
66. Алексеенко С.А. и др. Современные подходы к литолитической терапии и профилактике желчно-каменной болезни. Practic Medical Journal. 2006. N.1, p.14-17.
67. Бабак О.Я. Применение нового отечественного препарата глутаргин в гастроэнтерологии. Сучастна гастроэнтерлогия. 2003. № 2(12). с.85-87.
68. Бабак О. Я. Синдром холестаза: что нужно знать каждому врачу. Укр. тер. журн. 2005. № 3. с. 4-22.
69. Бакулин И.Г., Сандлер Ю.Г. Возможности применения гепатопротекторов в практике врача-терапевта. Consilium Medicum Ucraina 2010, nr.2, c.13-18..
70. Безкаравайный Б.А., Когутницкая М.И. препараты природного фосфатидилхолина: перспективы применения в педиатрии. Здоровье ребенка. 2007. № 6 (9).
71. Беленичев И.Ф. и др. Механизм противоишемического и антиоксидантного действия тиотриазолина. Новости медицины и фармации. 2007. № 2 (206), с.1-4.
72. Беляева Н.М., Тетова В.Б., Алешкович Т.В. Применение хофитола в комплексной терапии вирусных гепатитов. Инфекционные болезни. 2004. т.2. № 2. с.93-96.
73. Буеверов А.О. Адеметионин: биологические функции и терапевтические эффекты. Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологиию 2001.№ 3. с. 16–20.
74. Буеверов А.О. Урсодезоксихолевая кислота при алкогольной болезни печени: патогенетическое и клиническое обоснование применения. Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. 2004. № 1.с.15-20
75. Буеверов А.О. Возможности клинического применения урсодезоксихолевой кислоты. Consilium Medicum. Гастроэнтерология. 2005. т.7. № 1.
76. Бурков С.Г. и др. эффективность гранул L–орнитин- L -аспартата в лечении неалкогольной жировой болезни печени. Consilium Medicum. Гастроэнтерология. 2010. т.12. № 8.
77. Венгеровский А.И.Саратиков А.С. Гепатозащитгые фитопрепараты (силимарин, силибор, катерген). Сибирский медицинский журнал. 1997.N 3 c.59-63
78. Венгеровский А.И. Фармакологические подходы к регуляции функций печени. Бюллетень сибирской медицины. 2002, nr.1, c.25-29.
79. Вовк Л.М. Целесообразность и эффективность применения препаратов урсодезоксихолевой кислоты в терапии хронических вирусных гепатитов (обзор литературы). Сучастні інфекції. 2008. № 3. с.116-122.
80. Волоскова А В., Попова Т Н, Матасова Л В. Изменение параметров хемилюминесценции под влиянием тиоктовой кислоты в сыворотке крови и печени крыс, подвергнутых токсическому гепатиту. В кн.: Материалы научной конференции молодых ученых, посвященной 60-летию Института хирургии им А В Вишневского РАМН«Современные методы диагностики и лечения заболеваний в клинике и в эксперименте», - Москва 2005 – с. 436-437.

81. Волчкова Е.В. и др. Комплексная терапия при фульминантном течении острого вирусного гепатита В и В+Д. Фарматека. 2010. № 4. с.12-16.
82. Григорьева И.Н., Губергриц Н.Б., Фоменко П.Г. Урсодезоксихолевая кислота: «старые» и «новые» свойства. Перспективы клинического применения в панкреатологии. Вестник Клуба Панкреатологов. 2010. № 4. с.30-35.
83. Григорьев Л.Я. Хофитол в гастроэнтерологии и гепатологии (обзор литературы и собственные данные). Практикующий врач. 2003. № 1.
84. Громова О.А., Торшин И.Ю. Хофитол – стандатизированный экстракт артишока. Биохимический состав и фармакологические эффекты. Трудный пациент. 2009. 4-5. с.24-31.
85. Губергриц Н.Б. Адеметионин: от фармакологии к клинической эффективности (обзор литературы). Сучастна гастроэнтерология. 2004. № 4 (18). с.74-80.
86. Губергриц Н.Б. «Эссутциале форте Н» и «Эссутциале Н» в гепатологии и гастроэнтерологии. Сучастна гастроэнтерлогия. 2008. № 5 (43). с.79-89.
87. Губергриц Н.Б., Лобас Е.В. Патогенетическое обоснование и эффективность цитраргина при лечении сочетанных алкогольных заболеваний печени и поджелудочной железы. Сучастна гастроэнтерлогия. 2003. № 4 (14). С.59-62.
88. Дороговоз С.М., Щекина Е.Г. Эффективность антраля при алкогольных поражениях печени. Провизор. 2008. № 18.
89. Драгомирецкая Н.В. эффективность применения цитраргина в восстановительном лечении острых токсических и вирусных гепатитов. Сучастна гастроэнтерлогия. 2002. № 3 (9). с.97-99.
90. Журавель Е.В., Дороговоз С.М. Фосфолипидные препараты в гепатологии: реалии и преспективы. Провизор. 1998. № 12.
91. Залялютдинова Л.Н. Особенности и свойства липоевой кислоты. Практика. 2009.
92. Звягинцева Т.Л., Дергачева А.В. Новые возможности в лечении токсических гепатитов. Здоровья Украины. 2004. № 107..
93. Звягинцева Т.Д., Чернобай А.И. Современные аспекты применения Эссенциале форте Н при неалкогольном стеатогепатите: настоящее и будущее. Здоровья Украины. 2008. №.15-16, с. 68-69.
94. Звягинцева Т.Д., Чернобай А.И. Применение препарата антраль в лечении неалкогольного стеатогепатита: настоящее и будущее. Здоровья Украины. 2009. № 1-2, с.68-69.
95. Звягинцева Т.Д., Чернобай А.И. Сцвременные подходы к лечению неалкогольного стеатогепатита. Симейна медицина. 2009. № 2, с.12-17.
96. Ивашкин В.Т., Буеверов А.О. Патогенетическое и клиническое обоснование применения адеметионина в лечении болных с внутрипеченочным холестазом. Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. 2009. № 5.с.24-29.
97. Ильченко Л.Ю. и др. Клинические аспекты печеночной энцефалопатии у больных хроническими заболеваниями печени Consilium Medicum. Гастроэнтерология. 2007. Т. 09. № 1 . с.1-11.
98. Ильченко Л.Ю. Применение эссенциальных фосфолипидов при лечении хронических гепатитов разной этиологии. Consilium Medicum. Гастроэнтерология. 2008. № 2.
99. Ипатова О.М. Фосфоглив: механизм действия и применение в клинике. М. 2005. 318 с.

100. Карлович Т.И., Ильченко Л.Ю. Альфа-липоевая кислота в гепатологии. Трудный пациент. 2008. № 11.
101. Кедровская Н.А., Белоконова О.В. Иммуномодулирующие и гепатопротекторные эффекты различных лекарственных форм «Фосфоглива» в условиях индометацинового токсического поражения печени. Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2009. № 46 с.5-10.
102. Кедровская Н.А. Иммуномодулирующие и гепатопротекторные эффекты различных лекарственных форм «Фосфоглива» при токсического поражения печени. Автореф.уч.ст.канд.мед.наук. 2009. 18 с.
103. Козачок Н.Н., Селюк М.Н. применение липоевой кислоты (берлитиона) в клинической практике. Мистечтво Лукавня. 2003. № 5.
104. Козько В.И., Бондаренко А.В., Юрко К.В. Применение растительных гепатопротекторов при вирусных поражениях печени. Провизор.2010. № 15.
105. Колесникова Е.В. Урсодезоксихолевая кислота . «урсолизин»: применение в настоящем и будущем. Украинский терапевтичний журнал. 2008. № 4. с. 96-101.
106. Коршунов Д.А. Влияние эссенциале и янтарной кислоты на биоэнергетику печени при интоксикации парацетамолом в эксперименте. Бюллетень сибирской медицины. 2009. № 4, с.70-75.
107. Крамарев С.А. Современные гепатопротекторы в гепатологии. Здоровья Украины 2009, nr.1, с.5-9.
108. Лаптева Е.Н., Рощин В.И., Султанов В.С. Специфическая активность полипренольного препарата «Ропрен» при токсическом повреждении печени в эксперименте. Клиническое питание. 2007. № 3. с.28-32.
109. Лоранская И.Д., Ракитская Л.Г., Мамедова Л.Д. Возможности применения экстракта артишока у больных хроническим алкогольным гепатитом. РЖГГК. 2005. № 3.
110. Маев И.В., Дичева Д.Т. Роль эссенциальных фосфолипидов в лечении неалкогольного стеатогепатита. Consilioum medicum Гастроэнтерология . 2010. №1.
111. 20 Макеева А В., Попова Т Н., Матасова Л В. Гепатопротекторное действие тиоктовой кислоты при развитии токсического гепатита у крыс. Молекулярная медицина. 2007. №4, с. 61-63
112. Мазур И.А., Волошин Н.А., Чекман И.С. и др. Клиническое применение тиотриазолина в терапии. Сучастна гастроэнтерлогия. 2006. № 1 (27). с.71-72
113. Мазур И.А., Волошин Н.А., Чекман И.С. и др Тиотриазолин: фармакологические аспекты и клиническое применение . Запорожье, 2005. – 156 с.
114. Матвеев А.В., Коняева Е.И., Кучеренко В.Н. и др. Гепатопротективные свойства силимарина. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология (клиническая фармакология). 2011 nr.2, с.130-135.
115. Мехтиев С.Н., Гриневич В.Б., Кравчук Ю.А. и др. Острый алкогольный гепатит: прогноз и подходы к терапии. РЖГГК. 2008. № 6. с.43-50.
116. Морозов С.В., Кучерявый Ю.А. Гепатопротекторы в клинической практике: рациональные аспекты использования (пособие для врачей). М. 2011. 30 с.
117. Новиков В.Е., Климкина Е.И. Возможности фармакологической протекции функций печени. Вестник Смоленской медицинской Академии. 2005, nr.3, с.36-53.
118. Оковитый С.В., Шуленин С.Н. Клиническая фармакология гепатопротекторов. 2006, 80с.

119. Осипенко М.Ф. и др. Оценка L–орнитина- L -аспартата в комплексном лечении неалкогольного стеатогепатита. Consilium Medicum. 2010. № 2. с.18-20.
120. Пахомова И.Г., Успенский Ю.П. эссенциальные фосфолипиды: свойства и особенности. Consilium Medicum. Гастроэнтерология. 2010. № 1. с.75-79.
121. Подымова С.Д. Возможности клинического использования адеметионина у болных заболеваниями печени. Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. 2010. № 3.с.17-24.
122. Полунина Т.Е., Маев И.В. Место гепатопротекторов в практике интерниста. Consilium Medicum, Гастроэнтерология, 2010, nr. 1, с-95 – 101.
123. Савченкова Л.В., Филатов Д.А., Белоусов И.П. Клиническая фармакология тиотриазолина (обзор литературы). Укринский медичний альманах. 2008. т.11. № 3, с.212-217.
124. Путинцев В.И. и др. некоторые аспекты применения липоевой кислоты (берлитиона) в лечении хронического токсического гепатита. Мистечтво Лукавня. 2003. № 1.
125. Самарин Д.В. Возможности использования эссенциальных фософлипидов в лечении пациентов с вирусными гепатитами. Terapia. 2008 . №5 (26).
126. Савустьяненко А.В. Тиотриазолин (физиологические и клинические аспекты применения). Новости медицины и фармации. 2008 , nr.15 (252).
127. Самогальская Е.Е. Эффективность тиотриазолина в различных дозах при хронических диффузных заболеваниях печени. Сучастна гастроэнтерлогия. 2006. № 2 (28). с.34-39.
128. Саратиков А.С. и др. Новые гепатопротекторы лохеин, эплир, липроксол. Сибирский онкологический журнал. 2002. № 1, с. 70-72.
129. Ситников И.Г., Рыжкина А.В., Бохонов М.С. Особенности нарушений липидного обмена и их коррекция препаратом фосфоглив при хроническом гепатите. СТМ. Клиническая медицина. 2009. № 1, с.54-56.
130. Скакун Н.П., Шманько В.В., Охримович Л.М. Клиническая фармакология гепатопротекторов. Тернополь. 1995. 270 с.
131. Скрипник И.Н. Эссенциальные фосфолипиды в лечении и профилактике медикаментозных поражений печени. Сучастна гастроэнтерлогия. 2009. № 4 (48). С.22-30.
132. Соломенник А.О. и др. Влияние глутаргина на клинико-биохимические показатели у больных острым вирусным гепатитом А. В кн.: Актуальні питания фармачевтичноі і медичноі науки та практика. 2010. в.XXIII, № 4. с.107-109.
133. Степанов Ю.М., Залевский В.И. «Легалон» в терапии хронических заболеваний печени. Сучастна гастроэнтерлогия. 2007. № 6 (38). с.14-20.
134. Степанов Ю.М., Коссинская С.В. Применение тиотриазолина у больных с хроническими заболеваниями печени. Запорожский медицинский журнал. 2010. т.12.. № 5, с.212-217.
135. Ткач С.М. Эффективность и безопасность гепатопротекторов с точки зрения доказательной медицины. Здоровья Украины 2009, nr.6/1, с.7-10.
136. Успенский Ю.П. Эссенциальные фосфолипиды: старые природные субстанции – новые технологии производства лекарственных препаратов. РЖГГК. 2009. № 5, с.24-28.
137. Ушкалова Е.А. Место эссенциальных фосфолипидов в современной медицине. Фарматека. 2003. № 10. с.10-15.

138. Ушкалова Е.А. Лекарственные поражения печени. Врач. 2007. № 3.с. 22-26.
139. Фролов В.М., Григорьева А.С. Антраль – эффективный препарат для лечения заболеваний печени. Ураинский медичний часопик. 2003. № 2 (34). С.65-67.
140. Харченко Н.В., Опасанюк Н.Д. Опыт применения цитраргина в лечении пациентов с хроническими заболеваниями печени. Сучастна гастроэнтерлогия. 2002. № 2 (8). с.73-75.
141. Харченко Н.В. Применение урсодезоксихолевой кислоты в лечении больных с различными заболеваниями печени и желчевыводящих путей. Медициа залізначного транспорту України. 2002. № 2. с. 74-78.
142. Хворостинка В.Н. Клиническая эффективность α-липоевой кислоты (берлитиона 300) при хронических заболеваниях печению Мистецтво лжувания. 2004.с.60-62.
143. Чернега Н.А. и др. Оценка эффективности комплексной терапии детей, больных хроническим вирусным гепатитом В. Современная педиатрия. 2009. № 6 (28). с.79-82.
144. Швец В.И. и др. Фосфолипидсодержащие препараты для лечения лекарственных осложнений. Провизор. 2007. № 24.
145. Широкова Е.Н., Ещану В.С., Ивашкин В.Т. Хофитол в терапии неалкогольного стеатогепатита. Обмен опытом. 2004. № 2.
146. Щекатихина А.С. Гепатотропные свойства флаволигнанов. В кн. Труды Белорусского Государственного Университета. Серия Физиологические, биохимические и молекулярные основы функциональных систем. 2009, т.4, пг. 1, с.27-48.
147. Щербина М.Б. Возможности применения «Эссливер Форте» при лечении заболеваний печени. Сучастна гастроэнтерлогия. 2009. № 4 (48). С.59-65.
148. Шушляпин О.И., Панчеяко Г.Ю., Шушляпин А.О. Хронические гепатиты: синергизм фармакодинамических эффектов эспа-липона в комбинации с другими метаболическими препаратами / По материалам научно-практической конференции. — Харьков, 2003.
149. Эсауленко Е.В., Го А.А., Ветров Т.А. Использование препарата эспа-липон в комплексной терапии хронического гепатита С Медлайн-Экспресс. 2005. № 3 (179).
150. Юрьев К.Л. Адеметионин при болезнях печени. Доказательное досье. Украинский медицинский журнал, 2011, №3 (83).
151. Юрьев К.Л. Силимарин: эффекты и механизмы действия, клиническая эффективность и безопасность. Часть I. Эффекты и механизмы действия. Укр. мед. часопис, 2010. 2(76): 71–75
152. Юрьев К.Л. Силимарин: эффекты и механизмы действия, клиническая эффективность и безопасность. Часть II. Обзор доказательств клинической эффективности и безопасности. Укр. мед. часопис, 2010 3(77): 59–66
153. Юрьев К.Л. Силимарин: эффекты и механизмы действия, клиническая эффективность и безопасность. Часть III. Новые эффекты и области применения. Текущие клинические испытания. Укр. мед. часопис, 2011. 2(82): 54–60
154. Яковенко Э.П. и др. Роль альфа-липоевой кислоты (тиоктацида) в терапии метаболических заболеваний печени. Фарматека. 2005. № 3.

# Capitolul III

# PREPARATELE ENTOMOLOGICE ÎN PREVENIREA ŞI EVOLUŢIA AFECŢIUNILOR HEPATICE

## 3.1 Preparatele entomologice în prevenirea şi evoluţia afecţiunilor toxice ale ficatului

### 3.1.1 Pretratamentul cu preparate entomologice a afecţiunilor toxice ale ficatului

Acţiunea hepatotoxică a paracetamolului şi $CCl_4$ se caracterizează prin: dependenţa de doză; deficitul substanţelor de conjugare şi coenzimelor, enzimelor pentru detoxicare; modificarea toxicităţii sub influenţa enzimelor microzomiale; formarea de metaboliţi cu hepatotoxicitate mai intensă; dereglarea sistemului imun (Grigorescu T., 2004, Ghicavîi V. şi coaut., 2006, Куценко С.А., 2002). Tetracolrura de carbon şi paracetamolul pot produce lezarea ficatului cu manifestarea sindromului de citoliză (necroză centrolobulară), colestază, inflamaţie mezenchimală, diminuarea funcţiei detoxicante şi de sinteză. În mare masură acestea sunt confirmate prin determinarea enzimelor specifice şi/sau caracteristice: alaninaminotransferazei, aspartataminoransferazei, fosfatazei alcaline, γ-glutamiltranspeptidazei, lactatdehidrogenazei, precum şi a unor indici biochimici care caracterizează starea metabolismului glucidic (glucoza), proteic (proteinele totale, albumina, globulinele, uree, creatinina, factorii de coagulare etc.) şi lipidic (colesterolul total, trigliceridele etc.). Parametrii enumeraţi, de rând cu constatarea leziunii hepatice, sunt indicatori care se folosesc pentru determinarea eficacităţii substanţelor studiate ca hepatoprotectoare potenţiale (Ghicavîi V. şi coaut., 2006, Венгеровский А.И., Саратников А.С., 1991, Венгеровский А.И , 2002, Хабриев Р.У., 2005, Доркина Е.Г., 2010). Studiile experimentale în acest domeniu actualmente sunt orientate spre îndeplinirea condiţiilor medicinei bazate pe dovezi în conformitate cu cerinţele recomandărilor metodice de cercetare a preparatelor cu proprietăţi hepatoprotectoare.

În conformitate cu recomandările de studiu a preparatelor cu proprietăţi hepatoprotectoare, proba hexenalică se consideră ca un test obligatoriu iniţial de determinare a funcţiei antitoxice a ficatului. În afecţiunile hepatice experimentale, induse prin tetraclorura de carbon ($CCl_4$), paracetamol, izoniazidă, etanol etc. hepatotoxicitatea poate fi cauzată de însăşi substanţa iniţială sau metabolitul său. În acest caz va fi binevenit faptul dacă substanţa cercetată va fi un inhibitor al citocromului (CYT) P-450, iar hepatotoxicul (de exemplu, paracetamol, $CCl_4$) să exercite acţiunea sa nedorită numai după formarea matabolitului intermediar (N-acetil-benzochinonimină (NAPQI), $CCl_3^*$, $CCl_3OO^\cdot$) cu participarea CYT P-450. În acelaşi timp, inducţia CYP 2E1 (de exemplu, prin alcool) poate creşte hepatotoxicitatea paracetamolului chiar la doze obişnuite, lucru care la o persoană sănătoasă are loc numai la folosirea dozelor toxice de peste 10g (150 mg/kg). Elucidarea preparatelor hepatoprotectoare capabile să diminueze formarea metaboliţilor intermediari toxici ar deschide noi posibilităţi de protecţie a hepatocitelor în cazul supunerii acţiunii unui agent hepatotoxic sau va permite de a ameliora evoluţia afecţiunii hepatice deja instalate.

În baza celor expuse s-a iniţiat studiul influenţei preparatelor entomologice asupra hepatotoxicităţii $CCl_4$ şi paracetamolului prin determinarea duratei somnului hexenalic. Testul respectiv permite de a determina influenţa preparatelor cercetate asupra capacităţii de metabolizare a ficatului, precum şi de a elucida unele aspecte referitoare la mecanismele posibile ale acţiunii hepatoprotectoare.

La administrarea intraperitoneală a hexobarbitalului, la a 8-a zi de studiu durata somnului la animalele din lotul intact a constituit 36,8 ± 5,1 min (tab.3.1). După administrarea $CCl_4$, peste 24 ore s-a relevat o majorare a duratei somnului hexenalic de la 36,8 ± 5,1 min până la 42,9 ± 4,8 min ($P > 0,05$). Date similare au raportat Saratikov A.S. şi coaut. (1990, 1999, 2004), Okovityi S.V. (2004), Suja S.R. şi coaut. (2004), Bhadauria M. şi coaut. (2007), Sreedevi C.D. şi coaut. (2009), Al-Dosari M.S., (2010), Kumarappan C. şi coaut. (2011). Autorii consideră că acest efect este cauzat de influenţa tetraclorurii asupra citocromului P-450, inclusiv CYP 3A4, CYP 2E1, implicate în metabolismul barbituricelor. La administrarea internă a $CCl_4$ în doza de 1ml/kg tump de 6 zile s-a constatat o majorare de 5 ori a duratei somnului hexenalic (Коломиец Н.Э. и др., 2005, 2011).

Pretratarea timp de o săptămână a animalelor cu entoheptin, cu injectarea ulterioară a $CCl_4$ a contribuit la o creştere a indicelui cercetat până la 57,1 ± 5,8 faţă de 42,9 ± 4,8 min ($P > 0,05$) din lotul numai cu hepatotoxic (tab.3.1.1.1). După administrarea timp de 7 zile a imuheptinului cu injectarea $CCl_4$ la a 7 zi, peste 24 ore s-a determinat o majorare a duratei somnului hexenalic de la 42,0 ± 4,8 min până la 63,8 ± 5,3 min. ($P>0,05$). În condiţii similare imupurinul manifesta un efect echivalent practic cu entoheptinul. Posibil, că în acest caz preparatele entomologice prin inhibirea preventivă a CYP 3A4 au diminuat inactivarea hexobarbitalului.

Administrarea dozei unice de 500 mg/kg de paracetamol a contribuit peste 24 ore la micşorarea duratei somnului barbituric (tab.3.1.1.1). Date similare, au fost raportate şi de Ben-Zvi Z. şi coaut. (1997). La injectarea hepatotoxicului animalelor pretratate timp de 7 zile cu entoheptin s-a constatat că parametrul respectiv era în limitele animalelor din lotul martor şi s-a majorat în mediu cu 4 min faţă de cel cu paracetamol (tab.3.1.1.1). Imupurinul după utilizarea timp de o săptămână şi modelarea leziunii hepatice prin paracetamol nu modifica practic durata somnului indus de hexobarbital în comparaţie cu lotul de control (33,6 ± 3,8min şi 34,1 ± 3,3 min respectiv, $P > 0,05$). La animalele care erau pretratate o săptămână cu imuheptin peste 24 ore de la injectarea intraperitoneală a dozei unice de 500 mg/kg de paracetamol durata somnului hexenalic s-a redus da le 34,1 ± 3,3 min până la 28,6 ± 2,9 min ($P > 0,05$).

În bioactivarea $CCl_4$ participă enzimele citocromului P-450, îndeosebi izoenzimele CYP 2E1, CYP 3A4, CYP 1A2, CYP 2B etc., cu formarea metaboliţilor activi ($CCl_3^\bullet$, $Cl^\bullet$) şi speciilor reactive ale oxigenului, responsabili de hepatotoxicitatea solventului organic (Chan W.H.et al., 2009, Ипатова О.М., 2005, Доркина Е.Г., 2010).

Tetraclorura de carbon în experienţele *in vitro* micşora nivelul citocromului P-450 în microzomii ficatului, ce ne relevă despre afectarea membranei reticulului endoplasmatic. Fenobarbitalul intensifică acest proces, precum şi viteza de inactivare a citocromului. Studiile *in vivo* au demonstrat că $CCl_4$ contribuie la o inactivare mai intensă a citocromului P-450 în microzomii ficatului la şobolani, iar în afecţiunea hepatică se reducea conţinutul citocromului P-450, precum şi activitatea N-demetilazei, p-hidroxilazei, NADPH-citocrom C reductazei şi NADH-fericianid reductazei (Ипатова О.М., 2005).

*Tabelul 3.1.1.1*

**Influenţa preparatelor entomologice asupra duratei somnului hexobarbituric în afecţiunile medicamentoase induse de tetraclorura de carbon şi paracetamol**

| Nr. d/o | Grupele de animale | Durata somnului (min.) | P |
|---|---|---|---|
| 1 | Intacte | 36,8 ± 5,1 | |
| 2 | $CCl_4$ 0,4 ml/kg | 42,9 ± 4,8 | $P_{1-2} > 0,05$ |
| 3 | Entoheptin (50 mg/100g) + $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 57,1 ± 5,8 | $P_{1-3} < 0,05$<br>$P_{2-3} > 0,05$ |
| 4 | Imuheptin (50 mg/100g) + $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 63,8 ± 5,3 | $P_{1-4} < 0,05$<br>$P_{2-4} > 0,05$ |
| 5 | Imupurin (50 mg/100g) + $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 56,0 ± 4,4 | $P_{1-5} < 0,05$<br>$P_{2-5} > 0,05$ |
| 6 | Paracetamol (500 mg/kg) | 34,1 ± 3,3 | $P_{1-6} > 0,05$ |
| 7 | Entoheptin (50 mg/100g) + paracetamol (500 mg/kg) | 38,1 ± 2,1 | $P_{1-7} > 0,05$<br>$P_{6-7} > 0,05$ |
| 8 | Imuheptin (50 mg/100g) + paracetamol (500 mg/kg) | 28,6 + 2,9 | $P_{1-8} > 0,05$<br>$P_{2-8} > 0,05$ |
| 9 | Imupurin (50 mg/100g) + paracetamol (500 mg/kg) | 33,6 ± 3,8 | $P_{1-9} > 0,05$<br>$P_{6-9} > 0,05$ |

Lezarea hepatocitelor prin $CCl_4$ este urmată de afectarea funcţiilor energetice ale mitocondriilor prin micşorarea activităţii enzimelor lanţului respirator localizate pe suprafaţa internă a membranelor mitocondriilor (succinatdehidrogenazei şi citocromoxidazei), ce ne relevă despre afectarea profundă a sistemelor membranare intracelulare (Ипатова О.М., 2005)

În studiile experimentale s-a studiat influenţa inductorilor şi inhibitorilor citocromului P-450 asupra hepatotoxicităţii $CCl_4$. Astfel, unii autori consideră că CYP 2E1 este izoenzima principală responsabilă de formarea metaboliţilor toxici (Wang P.Y et al., 1999, Jeong H.G.et al., 2002, Qin L.Q.et al., 2005, Hwang Y.P.et al., 2007, Tarantino G.et al., 2009, Mochizuki M.et al., 2009, El B.K.et al., 2009, Lima

T.B.et al., 2010, Allman M.et al., 2010, Kumarappan C.et al., 2011, Quan J.et al., 2011, Karwani G., Sisodia S.S., 2011, Bashandy S.A., AlWesel S.H., 2011, Verma N.et al., 2011, Tien Y.C.et al., 2011, Raj V.P.et al., 2010, Alisi C.S.et al., 2011, Lin J.et al., 2011).

Quan J. şi coaut (2011) au relevat că $CCl_4$ micşora expresia şi funcţia CYP 2E1. Tetraclorura de carbon (0,05ml/kg) la şoricei a cauzat reducerea expresiei CYP 2E1 şi CYP 1A2 cu diminuarea metabolizării oxidative a paracetamolului (350 mg/kg i/p). Aceasta s-a manifestat prin reducerea nivelului acetaminofen-cisteinei şi acetaminofen-mecapturatului în plasmă şi urină cu majorarea în ser a concentraţiei acetaminofen-glucuronidului şi acetaminofen-sulfatului şi creşterea eliminării acestora prin urnă (Yim H.K.et al.,2006).

Tetraclorurra de carbon la administrarea intraperitoneală semnificativ a micşorat ARNm al CYP 2E1, CYP 2B, CYP 3A2, CYP 2C11 şi CYP 1A2 şi expresia proteinelor, iar extractul din *Nigella sativa* preîntâmpina supresia CYP 2B, CYP 3A2, CYP 2C11 şi CYP 1A2 (Ibrahim Z.S.et al., 2008).

Wang P.Y. şi coaut (1999) au constatat că acarboza, un inhibitor al alfa-glicozidazei intestinale, a crescut activitatea CYP 2E1 şi rata dimetilnitrozamin demetilării. În aceste condiţii şi etanolul a manifestat efecte similare, care au fost potenţate de asocierea cu acarboza. Pretratamentul separat cu inhibitorul alfa-glicozidazei şi etanol a crescut hepatotoxicitatea $CCl_4$. Autorii consideră că în acest caz are loc inducţia CYP 2E1 cu bioactivarea hepatotoxicului.

Date similare au fost obţinute şi la administrarea unui alt inhibitor al alfa-glicozidazei – voglibozei (Qin L.Q.et al., 2005). Preparatul a potenţat hepatotoxicitatea $CCl_4$ (majorarea activităţii AsAT, AlAT în plasmă, micşorarea nivelului GSH şi creşterea DAM în ficat) prin majorarea conţinutului şi activităţii CYP 2E1. În acelaşi timp activitatea altor enzime microzomiale, posibil implicate în bioactivarea $CCl_4$ CYP 3A şi CYP 1A2 era modificată uşor (Qin L.Q.et all., 2005).

Difenil diselenitul a potenţat hepatotoxicitatea $CCl_4$ prin activarea citocromului P-450 (Nogueira C.W.et al., 2009).

Dicofolul, un pesticid organofosforic, a crescut activitatea şi expresia ARNm a CYP 1A1, CYP 2B, CYP 2E1 şi CYP 3A la şobolani. La pretratarea cu dicofol s-a redus durata somnului indus de fenobarbital, iar administrarea $CCl_4$ a contribuit la majorarea activităţii AsAT, AlAT (Chan W.H.et al., 2009). Autorii consideră că pesticidul a indus hepatotoxicitatea $CCl_4$ prin activarea CYP 1A1, CYP 2B, CYP 2E1 şi CYP 3A.

Lin J şi coaut. (2011) au determinat că $CCl_4$ micşora conţinutul total al citocromului P-450, dar creştea nivelul ARNm al CYP 2E1 şi CYP 3A1 cu intensificarea activităţii acestor izoenzime. Alcaloidul vegetal din *Rubus alceifolius Pior* a micşorat nivelul ARNm al CYP 2E1 ceea ce a contribuit la reducerea hepatotoxicităţii $CCl_4$.

Pretratamentul cu extractul din *Pleurotus cornucopiae* a manifestat efect hepatoprotector faţă de $CCl_4$ prin supresia expresiei CYP 2E1, relevat şi prin micşorarea activităţii transaminazelor (El B.K.et al., 2009).

Hepatotoxicitatea $CCl_4$ este determinată şi de creşterea concentraţiei calciului în hepatocite, datorită inhibării $Ca^{2+}Mg^{2+}$-ATP-azei, pompă a calciului în reticulul endoplasmatic, precum şi prin deschiderea canalelor de aflux ale ionului. Inhibarea eliberării de $CCl_4$ a calciului prin 4-metilpirazol şi IgG anti-CYP 2E1 indică că pentru activarea eliberării calciului este necesară metabolizarea hepatotoxicului. Concomitent s-a constatat că bioactivarea $CCl_4$ prin citocromul P-450 contribuie la creşterea sensibilităţii canalelor de calciu, posibil, prin oxidarea tiolilor lipofili ai canalelor, ce relevă că majorarea concentraţiei ionului este un mecanism al hepatotoxicităţii (Stoyanovsky D.A., Cederbaum A.Y., 1996).

Acidul 18-beta-gliceritinic, aglicon al glicirizinei, la pretratarea şoriceilor a prevenit hepatotoxicitatea $CCl_4$ (creşterea AsAT, AlAT, POL, reducerea GSH) printr-o micşorare dozo-dependentă a hidroxilării p-nitrofenolului şi anilinei mediate de CYP 2E1 (Jeong H.G.et al., 2002). Autorii denotă că efectul hepatoprotector al preparatului este determinat de diminuarea bioactivării $CCl_4$ prin CYP 2E1 (inhibarea expresiei şi activităţii) şi captarea radicalilor liberi (anionul superoxid) şi anihilarea POL..

De rând cu rolul enzimelor fazei I de metabolizare este importantă şi activitatea enzimelor fazei II. Dialil disulfidul şi dialil trisulfidul nu au modificat nivelul citocromului P-450 şi izoenzimelor CYP 2E1, CYP 1A1 şi CYP 1A2, dar au crescut semnificativ activitatea enzimelor fazei II (glutation-S-transferazei, chinion reductazei) şi antioxidante (glutation peroxidazei) (Fukao T.et al., 2004).

Este cunoscut că citocromul P-450 este responsabil de metabolizarea multor xenobiotice, medicamente, precum şi implicat în formarea de metaboliţi mai toxici ca substraturile iniţiale, inclusiv din acetaminofen a N-acetilbenzochinoniminei (NAPQI). Reieşind din aceste considerente, inhibitorii citocromului P-450 pot prezenta un potenţial terapeutic (Lieber C.S., 1997, Hazai E.et al., 2002, Cheung C.et al., 2005, Gonzalez F.J.,2005, Kim S.J.et al., 2009, Jaeschike H.et al., 2011). Reacţiile adverse ale paracetamolului sunt asociate cu stresul oxidativ, determinat de formarea speciilor reactive ale oxigenului şi/sau NAPQI. Ambele fenomene pot fi rezultatul activării citocromului P-450, iar acesta de rând cu NAD(P)H-oxidaza din reticulul endoplasmatic contribuie la generarea speciilor reactive ale oxigenului (Letelier M.E., 2011, Jaeschike H.et al., 2011).

Se cunoaşte că CYP 2E1 este implicat în bioactivarea a circa 85 xenobiotice cu formarea produselor hepatotoxice sau cancerigene (Lieber C.S., 1997, Meskar A.et al., 2001, Cheung C.et al., 2005, Russmann S.et al., 2009). Proliferarea reticulului endoplasmatic se asociază cu creşterea activităţii citocromului P-450, inclusiv şi a CYP 2E1 (Lieber C.S., 1997). La şoriceii CYP 2E1 nuli (-/-), cărora li s-a introdus gena umană a izoenzimei respective, s-a demonstrat că utilizarea acetonei a contribuit la inducţia CYP 2E1. Administrarea pe acest fundal a acetaminofenului a condus la dezvoltarea afecţiunii hepatice cu micşorarea nivelului citocromului P-450 (Cheung C.et al., 2005). Autorii au constatat că CYP 2E1 uman contribuie la accelerarea metabolismului substraturilor acestei izoenzime – clorzoxazonei, p-nitrofenolului, paracetamolului şi acetonei.

Administrarea paracetamolului în doză unică (500 mg/kg i/p) la şoricei a crescut activitatea microzomială a citocromului P-450 şi expresia CYP 2E1, CYP 3A şi CYP 1A în ficat, urmând ca la injectarea repetată să se altereze metabolismul şi consecinţele toxice ale analgezicului, precum şi a altor substanţe chimice, substraturi ale acetsor enzime (Kim S.J.et al., 2009). În condiţii similare la şobolani acetaminofenul a indus expresia CYP 2E1 şi , mai puţin important, a CYP 3A cu depleţia GSH fără a modifica activitatea glutation-S-transferazei (Kim S.N.et al., 2007).

Acetaminofenul (300 mg/kg intern) la şoriceii cu dietă obişnuită a cauzat peste 6 ore o creştere a nivelului ARNm a CYP 2E1 asociată cu majorarea activităţii AlAT şi afectarea centrolobulară a ficatului. Concomitent, s-a constatat o diminuare a perfuziei sinusoidale şi infiltrarea spaţiilor Disse cu eritrocite cu formarea de numeroase defecte între celulele sinusoidale. În acelaşi timp, la şoriceii ce urmau o dietă bogată în lipide şi glucide timp de 4 luni (se dezvoltă o steatoză hepatică cu creşterea AlAT) nu se realiza hepatotoxicitatea paracetamolului. În acest caz reducerea activităpţii AlAT era asociată cu diminuarea nivelului ARNm al CYP 2E1. Astfel, s-a concluzionat că dieta respectivă reducea hepatotoxicitatea acetaminofenului prin inhibarea inducţiei CYP 2E1, minimalizarea dezvoltării şi corecţia perturbărilor sinusoidale (Ito Y.et al., 2006).

Tetraclorura de carbon (0,05ml/kg) la şoricei a cauzat micşorarea expresiei CYP 2E1 şi CYP 1A2 cu diminuarea metabolizării oxidative a paracetamolului (350 mg/kg i/p). Aceasta s-a manifestat prin reducerea nivelului acetaminofen-cisteină şi acetaminofen-mecapturat în plasmă şi urină cu majorarea în ser a concentraţiei acetaminofen-glucuronidului şi acetaminofen-sulfatului şi creşterea eliminării acestora prin urină (Yim H.K.et al., 1998, 2006).

Yan S.L. şi coaut. (2009) au relatat că pretratamentul cu carnozină şi histidină a preîntâmpinat inducerea CYP 2E1 de către acetaminofen cu anihilarea stresului oxidativ şi proceselor inflamatoare în ficat.

Acetaminofenul în doza de 150 mg/kg la şoricei a produs o hepatotoxicitate minimă cu micşorarea activităţii CYP 2E1, dar nu a CYP 1A2. În acelaşi timp, administrarea de doze de 400 mg/kg a declanşat o hepatotoxicitate mai mare cu diminuarea activităţii ambelor izoenzime. Preparatul, în ambele doze, la pretratarea cu acetonă, inductor al CYP 2E1, a cauzat o micşorare similară a activităţii CYP 2E1 şi un nivel identic al proteinelor cuplate covalent cu NAPQI. Pretratarea cu beta-naftaflavon, un inductor al CYP 1A2, a crescut activitatea izoenzimei, care a fost redusă doar la dozele mari de acetaminofen. Rezultatele relatate arată că CYP 2E1 este importantă în bioactivarea paracetamolului la doze mici cu o adiţie pentru cele mari, iar CYP 1A2 este responsabilă de formarea metabolitului toxic la dozele mari (Snawder J.E.et al., 1994).

În condiţii experimentale s-a studiat rolul CYP 1A1, CYP 1A2, CYP 2A6, CYP 2B6, CYP 2C9, CYP 2C19, CYP 2D6, CYP 2E1 , CYP 3A4 în bioactivarea paracetamolului la doze terapeutice şi toxice (Grypioti A.D., 2006, Laine J.E.et al., 2009, Hinson J.A.et al., 2010, Шиффман Е.М., Ершов А.Л., 2007). La doze toxice formarea metabolitului toxic (NAPQI) a fost catalizată de CYP 3A4 după care urmează CYP 2E1, CYP 1A2 şi CYP 2D6, iar la cele terapeutice CYP 3A4 este cea mai importantă izoenzimă în transformarea acetaminofenului (Laine J.E.et al., 2009). Astfel, autorii au concluzionat că CYP 3A4 este cel mai important în oxidarea analgezicului la metabolitul toxic.

În studiile *in vitro* pe microzomi de hepatocite umane s-a constatat implicarea CYP 2E1, CYP 1A2 şi CYP 3A4 în formarea NAPQI din acetaminofen. Studiile de farmacocinetică *in vivo* la om au stabilit că CYP 1A2 are un efect neglijabil asupra metabolismului paracetamolului. În aceste condiţii disulfiramul, un inhibitor al CYP 2E1, a redus formarea compuşilor tiolici (NAPQI+GSH) şi clearancele NAPQI, iar rifampicina, inductor al CYP 3A4, nu a influenţat formarea metabolitului toxic sau nivelul conjugaţilor lor tiolici (Manyike P.T.,et al., 2000). În baza rezultatelor obţinute autorii au conchis că CYP 2E1 este cea mai importantă izoenzimă a citocromului P-450 în formarea NAPQI, în timp ce activitatea altora este neglijabilă.

Wolf K.K. şi coautorii (2007) au constatat că etanolul şi izopentanolul au crescut activitatea CYP 3A4 şi CYP 2E1, ceea ce a contribuit la majorarea hepatotoxicităţii acetaminofenului. În acelaşi timp triacetiloleandomicina, inhibitor mai selectiv al CYP 3A4, reducea acţiunea hepatotoxică a paracetamolului. Date similare au fost obţinute şi de Kostrubsky V.E. şi coaut. (1997) care au demonstrat că alcoolul în culturi de hepatocite şi la şobolanii intacţi a indus, de rând cu CYP 2E1, şi CYP 3A.

Vogliboza a potenţat hepatotoxicitatea acetaminofenului (750 mg/kg i/p) la şobolani, relevată prin creşterea activităţii transaminazelor în ser, micşorarea nivelului GSH şi majorarea DAM în ficat, prin inducerea CYP 2E1 şi cu o uşoară modificare a CYP 3A şi CYP 1A2, (Qin L.Q.et al., 2005).

Troglitazonul manifestă efect hepatotoxic şi potenţează hepatotoxicitatea acetaminogenului prin inducţia CYP 3A4 (Li J.et al., 2002).

Stiripentolul, un anticonvulsivant, inhibitor al CYP 3A4 şi CYP 1A2, a manifestat un efect protector mai marcat ca N-acetilcisteina în afecţiunea hepatică indusă prin paracetamol prin reducerea formării NAPQI de către enzimele citocromului P-450 (Tran A.et al., 2001).

Inhibitorii selectivi ai CYP 3A4 şi CYP 1A2 nu au redus, pe când cei ai CYP 2A6 şi CYP 2E1 au micşorat semnificativ formarea NAPQI din paracetamol. În acest aspect 4-metilpirazolul, disulfiramul şi dietil-ditiocarbamatul, inhibitori selectivi ai CYP 2E1, s-au dovedit cei mai potenţi în micşorarea formării NAPQI (Hazai E.et al., 2002).

Un şir de extracte vegetale îşi realizau efectul hepatoprotector prin inhibarea activităţii enzimatice a CYP 2E1 (Li I.et al., 1997, Sumioka I. et al., 2001, Jang S.I.et al., 2003, Choi J.H.et al., 2009, Hau D.K.et al., 2009, Patel P.B.et al., 2010).

Astfel, S-alilmercaptocisteina la pretratare a redus hepatotoxicitatea acetaminofenului prin inhibarea semnificativă a CYP 2E1 (Sumioka I. et al., 2001). Fenetilizocianatul a prevenit hepatotoxicitatea paracetamolului, inclusiv şi cea potenţiată de aclool, prin micşorarea nivelului NAPQI în plasmă şi excreţia urinară a acetaminofen-cisteinei. Preparatul, la incubarea microzomilor, a redus rata formării complexelor paracetamolului cu GSH (Li I.et al., 1997). Baicalinul, flavonă vegetală, a prevenit majorarea AsAT, AlAT, depleţia GSH, letalitatea şi necroza şi a micşorat semnificativ activitatea CYP 2E1 indusă de acetaminofen, fapt ce denotă că inhibarea acestei izoenzime determină protecţia faţă de hepatotoxicitatea analgezicului (Jang S.I.et al., 2003). Fracţia de antocianide a manifestat efect protector în afecţiunea indusă de acetaminofen prin micşorarea nivelului proteinei CYP 2E1 şi inhhibarea dozo-dependentă a anilin hidroxilării mediate de izoenzima respectivă (Choi J.H.et al., 2009). Beta-amirinul, ce se conţine în *Gymnosporia montana*, a manifestat efect protector faţă de hepatotoxicitatea paracetamolului prin supresia citocromului P-450 cu diminuarea formării NAPQI (Patel P.B.et al., 2010).

Propilen glicolul (inhibitor al CYP 2E1) şi propilen glicolul+fluvoxamina, dar nu fluvoxamina (inhibitor al CYP 1A2), au protejat de hepatotoxicitatea acetaminofenului. Datele respective denotă că CYP 2E1 joacă un rol mai important în lezarea ficatului de analagezic (Thomsen M.S.et al., 1995).

Dialilsulfonul a manifestat efect protector la pretratare şi tratare în afecţiunea hepatică indusă prin acetaminofen prin inhibarea marcată a CYP 2E1 şi uşoară a CYP 3A4 şi CYP 1A2 (Lin M.C.et al., 1996).

S-adenozil-metionina interacţionează cu citocromul P-450, în special cu CYP 2E1, şi inhibă activitatea catalitică a CYP 2E1 într-o manieră reversibilă şi noncompetitivă. Astfel, SAM se consideră ca un inhibitor slab al CYP 2E1, iar aceasta nu joacă un rol importnat în protecţia faţă de hepatotoxicitatea paracetamolului, $CCl_4$ şi etanolului cauzată de formarea metaboliţilor toxici de către CYP 2E1 (Caro A.A., Cederbaum A.J.., 2005).

Zaher H. şi coaut.(1998) au constatat că şoriceii dublu nuli (CYP 2E1 şi CYP 1A2) erau rezistenţi la acţiunea toxică a paracetamolului în doze de 200-1200 mg/kg, în timp ce la animalele intacte dozele de 600 şi 800 mg/kg provocau majorarea activităţii AlAT, SDH, infiltrarea lipidică şi necroza ficatului. Autorii, în baza rezultatelor obţinute, au concluzionat că CYP 2E1 şi CYP 1A2 sunt responsabili de formarea NAPQI, cuplarea acestuia cu proteinele şi afectarea ficatului.

Sarich T. şi coaut. (1997), reieşind din afirmaţiile că CYP 1A2, CYP 2E1 şi CYP 3A4 sunt implicaţi în formarea NAPQI, au studiat influenţa omeprazolului, inductor al CYP 1A2, la om asupra metabolismului paracetamolului. Pretratarea cu omeprazol, la metabolizatorii lenţi şi rapizi ai S-mefenitoinei, a demonstrat că inducţia CYP 1A2 nu a crescut formarea NAPQI. Aceasta le-a permis autorilor să tragă concluzia că izoenzima respectivă nu potenţează hepatotoxicitatea acetaminofenului.

Chen Xia şi coaut. (2009) menţionează că citocromul P-450 este implicat în metabolismul medicamentelor, iar inducţia sau supresia acestuia poate influenţa afectarea ţesuturilor şi induce stresul oxidativ ca răspuns la activarea xenobioticelor. Autorii au demonstrat că CYP 2E1, 1A2 şi nivelul GSH sunt importanţi în hepatotoxicitatea paracetamolului. Administrarea polifenolilor din ceai a contribuit într-o maneră dozo-dependentă la o micşorare semnificativă a citocromului P-450 şi citocromului $b_5$ în ficat, inclusiv la reducerea expresiei CYP 2E1 şi CYP 1A2. Concomitent, investigaţiile imunochimice au relevat o diminuare a expresiei ARNm a CYP 2E1 şi CYP 1A2 în ficat, îndeosebi la dozele medii şi mari ale polifenolilor. Astfel, polifenolii inhibă citocromul P-450 şi $b_5$, ceea ce poate contribui la micşorarea activităţii enzimelor implicate în metabolismul paracetamolului. În acelaşi timp, utilizarea infuziei din ceaiul verde sau negru a crescut nivelul CYP 1A2. Cafeina, componentul ceaiului, de asemenea a produs inducţia CYP 1A2. În baza datelor obţinute s-a concluzionat că polifenolii din ceai inhibă expresia CYP 2E1 şi CYP 1A2 la nivelul expresiei genelor şi astfel reduc formarea metabolitului toxic al acetaminofenului cu protecţia faţă de hepatotoxicitatea acestuia (Chen Yia et al., 2009).

Inductorii citocromului P-450 (CYP1A2, CYP2E1, CYP3A4), fenobarbitalul, glucoroticoizii, $H_1$-histaminoblocantele, alcoolul, izoniazida, fenitoina, rifampicina etc., cresc formarea metabolitului hepatotoxic al acetaminofenului NAPQI (Cheng J.et al., 2009, Куценко С.А., 2002, Белоусов Ю.В. и др., 2004, Михальчук М.А. и др., 2007). În aceste condiţii fenobarbitalul şi rifampicina au majorat activitatea CYP 3A4 cu intensificarea hepatotoxicităţii paracetamolului (Cheng J.et al., 2009).

În experienţe pe hepatocite izolate s-au studiat particularităţile metabolismului acetaminofenului în hepatocitele zonei perivenoase şi periportale. Nu s-a constatat diferenţă în intensitatea proceselor de sulfatare a analgezicului în aceste zone, iar glucuronizarea, îndeosebi la doze mari de paracetamol, era mai intensă în hepatocitele perivenoase. La expunerea la doze toxice de paracetamol s-a determinat o afectare mai accentuată a celulelor perivenoase cu un conţinut mai mare de CYP 2E1. Izolarea hepatocitelor de la şobolanii, pretrataţi cu etanol cu o inducţie a CYP 2E1, a relevat o susceptabilitate mai mare a celulelor perivenoase la analgezic şi o depleţie mai marcată a GSH. În contrast, celulele periportale rămâneau viabile. Izoniazida, un inhibitor al CYP 2E1, proteja hepatocitele de toxicitatea paracetamolului şi prevenea depleţia GSH. Inducţia CYP 2E1 de asemenea se manifesta printr-o creştere mai marcată în zonele perivenoase a produselor cuplării covalente a metaboliţilor intermediari ai analgezicului. Aceste date denotă că necroza centrolobulară în celulele perivenoase are loc din cauza activării CYP 2E1 (Anundi I.et al., 1993, Lieber C.S., 1999). Concomitent, s-a constatat că şi CYP 3A4 şi CYP 1A2 sunt implicate în metabolismul xenobioticelor (alcoolul) în zona perivenoasă, contribuind la activarea acestora şi lezarea ficatului (Lieber C.S., 1999).

Analiza datelor din literatură ne relevă că activitatea citocromului P-450 şi enzimelor fazei II de metabolizare sunt responsabile de hepatotoxicitatea paracetamolului atât prin inactivarea hepatotoxicului, cât şi prin intensificarea formării metaboliţilor lui toxici. Este cert că CYP 2E1 este una din principalele izoenzime responsabile de bioactivarea acetaminofenului, iar inhibitorii acesteia au demonstrat un efect benefic asupra hepatotoxicităţii analgezicului. În acelaşi timp, rolul altor izoenzime (CYP 1A2, CYP 3A4 etc.) este contradictoriu, şi depinde de specie, de polimorfismul genetic şi dozele hepatotoxicului. Implicaţia acestora în formarea NAPQI va deveni relevantă odată cu depresia CYP 2E1, îndeosebi în zona perivenoasă, la utilizarea repetată sau asocierea cu alte substraturi ce se metabolizează de izoenzima respectivă. Concomitent e necesar de remarcat şi importanţa enzimelor fazei II de metabolizare ce asigură procesele de glucuronoconjugare şi sulfatare a paracetamolului, precum şi a GST, responsabilă de refacerea GSH. Preparatele entomologice, posibil, pot fi responsabile atât de diminuarea activităţii citocromului P-450 (CYP 2E1 şi CYP 3A4), precum şi de asigurarea cu substraturi (metionină, cisteină etc.) pentru refacerea GSH.

La administrarea dozelor toxice de $CCl_4$ s-a determinat o tendinţă de majorare a indicelui masa ficatului/masa corpului (tab.3.1.1.2). Preparatele entomologice, utilizate preventiv timp de 7 zile, au contribuit la o diminuare neesenţială a parametrului studiat în comparaţie cu hepatotoxicul, însă nu s-a produs o normalizare a acestuia.

Un şir de autori au remarcat că la modelarea afecţiunii hepatice prin $CCl_4$ se constata o majorare a masei ficatului (Asif Mir et al., 2010, Karwani G., Sisodia S.S., 2011, Коломиец Н.Э и др., 2007). Astfel, administrarea $CCl_4$ în doza de 1ml/kg intern timp de 6 zile s-a soldat cu o micşorare a masei corporale şi o majorare a masei ficatului cu 50% (Karwani G., Sisodia S.S., 2011, Коломиец Н.Э и др., 2007). Asif Mir şi coaut.(2010) au constatat că $CCl_4$ majora masa ficatului datorită dilatării sinusoidelor şi congestiei, edemului (creşterea transportului apei în celulă) şi infiltrării lipidice.

Dozele toxice de paracetamol au determinat o majorare a indicelui masa ficatului/masa corpului de la 0,036 ± 0,001 până la 0,041 ± 0,003 ($P > 0,05$). Pretratarea cu entoheptin, imuheptin şi imupurin a preîntâmpinat creşterea parametrului respectiv la utilizarea dozelor toxice de paracetamol (tab.3.1.1.2). Rezultatele relatate ne permit să constatăm, că la administrarea paracetamolului în doze toxice sunt mai manifeste semnele de inflamaţie a ficatului, iar preparatele entomologice mai efectiv preîntâmpină inflamaţia produsă de analgezicul antipiretic.

Pentru aprecierea acţiunii hepatoprotectoare a preparatelor unii autori recomandă a folosi **indicele de hepatoprotecţie** sau **de supresie** (Lima de Medeiros B.J.et al., 2011, Доркина Е.Г. и др., 2010). Acesta a fost determinat după formula:

$$\mathbf{IH = 1 - [\,(O-N)/(K-N)\,] \times 100\%},$$

unde: IH - indicele de hepatoprotecţie; O – parametrul în grupa preparat entomologic + hepatotoxic; K – parametrul în grupa de control cu hepatotoxic; N – parametrul în grupa de animale intacte.

Această formulă este valabilă în cazul majorării indicilor de către hepatotoxic (de regulă, relevă hepatotoxicitatea xenobioticelor) pentru a aprecia efectul hepa-

*Tabelul 3.1.1.2*

**Influenţa preparatelor entomologice asupra indicelui masa ficatului/masa corpului, indicelui de hepatoprotecţie (IH) şi coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) în afecţiunile hepatice induse prin tetraclorura de carbon şi paracetamol**

| Nr. d/o | Grupele de animale | Indicele masa ficatului/masa corpului | P | IH % | CAH |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Intacte | 0,036 ± 0,001 | | | |
| 2 | $CCl_4$ 0,4 ml/kg | 0,039 ± 0,0008 | $P_{1-2} > 0,05$ | | |
| 3 | Entoheptin (50 mg/100g) + $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 0,038 ± 0,003 | $P_{1-3} > 0,05$<br>$P_{2-3} > 0,05$ | 34 | 0,03 |
| 4 | Imuheptin (50 mg/100g) + $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 0,038 ± 0,001 | $P_{1-4} > 0,05$<br>$P_{2-4} > 0,05$ | 34 | 0,03 |
| 5 | Imupurin (50 mg/100g) + $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 0,037 ± 0,003 | $P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{2-5} > 0,05$ | 67 | 0,05 |
| 6 | Paracetamol (500 mg/kg) | 0,041 ± 0,003 | $P_{1-6} > 0,05$ | | |
| 7 | Entoheptin (50 mg/100g) + paracetamol (500 mg/kg) | 0,036 ± 0,001 | $P_{1-7} > 0,05$<br>$P_{6-7} > 0,05$ | 100 | 0,14 |
| 8 | Imuheptin (50 mg/100g) + paracetamol (500 mg/kg) | 0,035 ± 0,002 | $P_{1-8} > 0,05$<br>$P_{2-8} > 0,05$ | 102 | 0,17 |
| 9 | Imupurin (50 mg/100g) + paracetamol (500 mg/kg) | 0,036 ± 0,002 | $P_{1-9} > 0,05$<br>$P_{6-9} > 0,05$ | 100 | 0,14 |

toprotector. În cazul în care hepatotoxicul micşorează parametrii denotă despre reducerea rezervelor hepatice. Pentru a aprecia capacitatea preparatului de a anihila efectul nedorit al hepatotoxicului ar fi binevenită următoarea formulă:

**IH = 1- [(K-N) /(Q-N)] x 100%.**

Pentru aprecierea eficacităţii farmacologice a preparatelor studiate unii autori recomandă de a folosi **coeficientul activităţii hepatoprotectoare** (CAH) (Ситников И.Г. и др., 2005, Бохонов М.С., 2007). Acesta se calculează după formula: **CAH = O/K – 1,** unde: CAH - coeficientul activităţii hepatoprotectoare; O – parametrul în grupa preparat entomologic + hepatotoxic; K – parametrul în grupa de control cu hepatotoxic.

Astfel de abordare este valabilă în situaţia în care hepatotoxicul micşorează parametrul analizat, iar preparatul cercetat contribuie la restabilirea acestuia. În cazul în care hepatotoxicul măreşte indicele ce relevă hepatotoxicitatea, pentru a aprecia eficacitatea preparatului cercetat e raţional de utilizat formula: **CAH = K/O – 1.**

Analiza modificărilor indicelui masa ficatului/masa corpului, prin prisma indicelui de hepatoprotecţie, a relevat că preparatele entomologice manifestau un efect protector moderat (IH pentru entoheptin şi imuheptin constituia – 34%, iar pentru imupurin – 67%) faţă de intoxicaţia produsă de $CCl_4$ şi marcat faţă de toxicitatea paracetamolului (IH pentru entiheptin şi imupurin era de 100%, iar imuheptin 102%). Datele relatate sunt în concordanţă şi cu CAH (tab. 3.1.1.2).

Studiile experimentale au demonstrat că la administrarea paracetamolului se constata creşterea indicelui masa ficatului/masa corpului sau masei ficatului (Terneus M.V.et al., 2008, Гончарова И.А. и др., 2004, Мелентьева А.Н., 2007, Вохминцева Л.В.и др., 2007). Autorii remarcă o stază marcată în vase şi sinusoide, dilatarea şi edemul tractului portal, infiltrarea cu limfocite şi macrofage.

Administrarea dozelor toxice de paracetamol este responsabilă de congestia hepatică la om şi rozătoare. S-a demonstrat că deja peste 1,5 ore de la injectarea acetaminofenului a crescut semnificativ masa ficatului, care continua să se majoreze de circa 2 ori până la a 6 oră, urmând ulterior să se reducă peste 24 ore. Concomitent cu masa ficatului creştea conţinutul hemoglobinei în ficat (de circa 4 ori la a 6 oră), asociată cu blocada fluxului hepatic, cu diminuarea ulterioară peste 24 ore. E necesar de menţionat că reducerea masei ficatului între 6-24 ore era însoţită de o majorare intensă a activităţii transaminazelor ce denotă liza hepatocitelor. Administrarea N-acetilcisteinei la 3 ore după paracetamol a ameliorat efectele relatate (Hinson J.A.et al.,2010). Autorii au demonstrat că dereglările microcirculaţiei în zonele centrolobulare preced afectării hepatocitelor. În acest caz s-a constatat edemul celulelor endoteliale şi penetrarea eritrocitelor în spaţiile Disse extrasinusoidale cu diminuarea între 2-6 ore a volumului sângelui în sinusoidele hepatice. Astfel, în intoxicaţia cu acetaminofen este alterată funcţia celulelor endoteliale cu reducerea perfuziei, care joacă un rol important în evoluţia ulterioară a hepatotoxicităţii şi evenimentelor biochimice.

Celulele endoteliale pot fi responsabile şi de formarea metabolitului toxic al paracetamolului ca urmare a prezenţei enzimelor citocromului P-450. Astfel, la unele specii de şoricei s-a demonstrat toxicitatea acetaminofenului asupra celulelor endoteliale prin activarea citocromului P-450 şi depleţia GSH, efecte preîntâmpinate de inhibitorul citocromului P-450 (Hinson J.A.et al., 2010).

Afecţiunile hepatice toxice produse de xenobiotice ($CCl_4$ paracetamol, halotan etc.) cel mai frecvent sunt centrolobulare cu afectarea hepatocitelor zonei perivenoase (zona III a acinusului) în care într-o măsură mai mare au loc procesele de metabolizare a xenobioticelor la un deficit relativ de antioxidanţi şi enzime de conjugare a metaboliţilor (Куценко С.А., 2002). Hepatotoxicele pot provoca leziuni centrolobulare printr-o necroză acută, precum şi prin intensificarea apoptozei. Necroza hepatocitelor, în cazul acţiunii dozelor toxice de paracetamol şi $CCl_4$, poate fi cauzată de: metaboliţii activi cu polaritate înaltă; cuplarea metaboliţilor, care posedă acţiune alchilantă sau acetilatoare, cu proteinele hepatice; micşorarea detoxicării intracelulare, inclusiv prin reducerea nivelului glutationului; dezvoltarea unor mecanisme idiosincrazice, dependente de diferenţe în activitatea enzimelor de metabolizare şi defecte ale sistemului imun (Куценко С.А., 2002).

Studiile morfologice au demonstrat că în comparaţie cu lotul intact (fig.3.1.1.1 şi 3.1.1.2) administrarea $CCl_4$ în doză unică de 0,4 ml/kg intraperitoneal s-a soldat cu modificări importante în parenchimul hepatic relevate prin dereglări degenerative difuze de tip hidroptic al hepatocitelor cu necroză hepatică în focar. În jurul venei centrale se detectează un focar de infiltrat inflamator limfo-leucocitar şi corpusculi apoptotici, formaţi în urma apoptozei pe fundalul dereglărilor hidroptice moderat-severe ale hepatocitelor (fig.3.1.1.3 şi 3.1.1.4). Injectarea $CCl_4$ după pretratamentul cu entoheptin timp de 7 zile s-a manifestat prin modificări degenerative difuze de tip hidroptic şi necroza hepatocitelor în focar, prezenţa infiltratului inflamator mononuclear şi a corpusculilor apoptotici în urma apoptozei hepatocitelor pe fundalul dereglărilor hidroptice (fig. 3.1.1.7 şi 3.1.1.8). Pretratamentul cu inuheptin timp de o săptămână a atenuat într-o măsură oarecare efectele hepatotoxice ale $CCl_4$. Astfel, în ficat se constatau modificări degenerative necrobiotice în regiunea centrolobulară, dar cu păstrarea integrităţii hepatocitelor din zona periferică. În jurul venei centrale se depistau corpusculi apoptotici în urma apoptozei hepatocitelor pe fundalul degenerării proteice a hepatocitelor, dar fără prezenţa infiltratului inflamator (fig. 3.1.1.11 şi 3.1.1.12). Administrarea dozelor toxice de $CCl_4$ pe fundalul pretratamentului cu imupurin a determinat dezvoltarea unor modificări degenerative difuze de tip hidroptic cu necroză hepatică în focar (fig.3.1.1.15 şi 3.1.1.16).

Administrarea paracetamolului, în doza de 500 mg/kg intraperitoneal, s-a soldat cu modificări degenerative proteico-hidroptice ale hepatocitelor, predominant în zonele periferice ale hepatocitelor (fig. 3.1.1.5 şi 3.1.1.6). La utilizarea analgezicului în doza respectivă pe fundalul pretratamentului cu entoheptin timp de 7 zile s-au depistat dereglări proteice degenerative de grad uşor ale parenchimului din zona centrolobulară adiacentă venei centrale (fig. 3.1.1.9 şi 3.1.1.10). Pretratamentul cu imuheptin şi imupurin timp de o săptămână a prevenit totalmente modificările histologice în ficat, caracteristice dozelor toxice de paracetamol (fig.3.1.1.13 şi 3.1.1.14; 3.1.1.17 şi 3.1.1.18).

Analiza rezultatelor obţinute denotă că $CCl_4$ a provocat dereglări morfologice caracteristice, iar pretratamentul cu entoheptin şi imupurin n-a contribuit la preîntâmpinarea modificărilor structurale în ficat. În acelaşi timp imuheptinul a diminuat hepatotoxicitatea $CCl_4$ prin păstrarea integrităţii hepatocitelor din zona periferică şi preîntâmpinarea formării infiltratului inflamator. În acelaşi timp, preparatele entomologice imuheptin şi imupurin au preîntâmpinat totalmente dereglările morfologice produse de paracetamol, iar entoheptinul le-a diminuat semnificativ.

Analiza datelor din literatură ne-a relevat că peste 24 ore după administrarea $CCl_4$ s-a constatat: degenerarea hidroptică a hepatocitelor, infiltrat inflamator, steatoză, hemoragie şi necroza hepatocitelor (Adeneye A.A., 2009, Feng Y.et al., 2010, Tien Y.et al., 2011, Verma N.et al., 2011, Karwani G., Sisodia S.S., 2011, Саратиков А.С. и др., 2008, Чучалин В.С. и др., 2010).

Tetraclorura de carbon sub influenţa CYP 2E1 formează $CCl_3^*$, iar în prezenţa oxigenului $CCl_3OO^*$, radicali care iniţiază peroxidarea acizilor graşi nesaturaţi în reticulul endoplasmatic şi mitocondrii deja peste minute de la administrarea $CCl_4$. Necroza este evidentă peste 12 ore cu un vârf la 24-72 ore, dependent de doza hepatotoxicului. Hepatocitele moarte provoacă un influx de leucocite în aria necrotică, care produc citochine ce cauzează proliferarea hepatocitelor viabile, precum şi transformarea celulelor stelate în miofibroblaşti, ce stimulează procesele reparative şi de fibroză prin creşterea producerii de colagen (Allman M.et al., 2010).

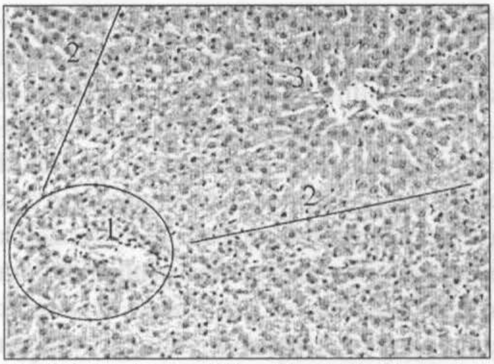


**Fig. 3.1.1.1. Parenchimul hepatic, lipsa modificărilor morfologice: 1-placa portală; 2-limitele lobulului hepatic; 3- vena centrală. Coloraţie hematoxilină-eozină. x100.**

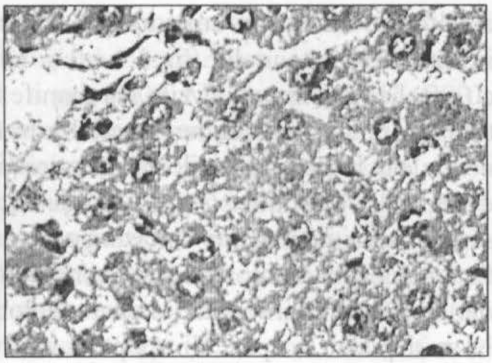


**Fig. 3.1.1.2. Parenchim hepatic adiacent plăcii portale. Coloraţie hematoxilină-eozină. x400.**

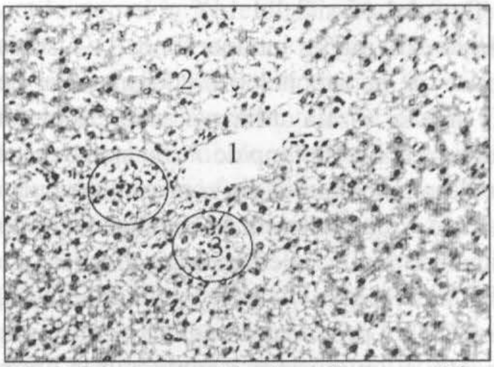


**Fig. 3.1.1.3 Parenchim hepatic cu modificări degenerative difuze de tip hidropic a hepatocitelor (2), necroza hepatică în focar (3), 1-vena centrală a lobulului hepatic. Coloraţie hematoxilină-eozină. 1x10.**

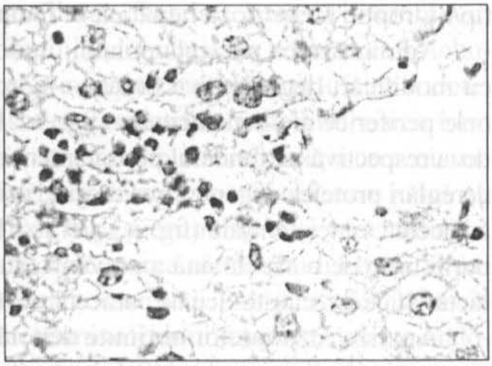


**Fig. 3.1.1.4 Parenchim hepatic adiacent venei centrale. Se depistează focarul de infiltrat inflamator limfo-leucocitar şi corpusculi apoptotici formaţi în urma apoptozei hepatocitelor pe fundalul degenerării hidropice moderat-severe a hepatocitelor. Coloraţie hematoxilină-eozină. x400.**

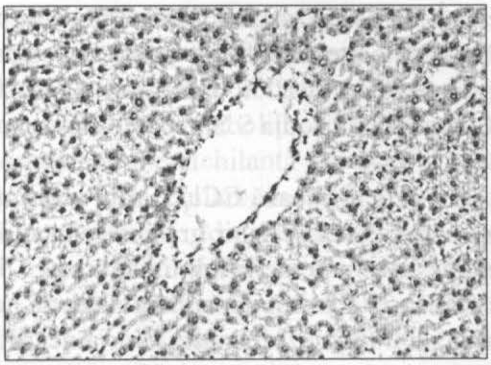


**Fig. 3.1.1.5 Modificări degenerative proteico-hidropice ale hepatocitelor preponderent în zonele periferice ale lobulului hepatic. Coloraţie hematoxilină-eozină. x150.**

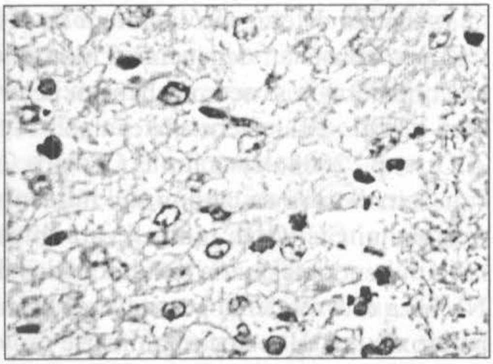


**Fig. 3.1.1.6 Modificări degenerative proteico-hidropice ale hepatocitelor. Coloraţie hematoxilină-eozină. x400.**

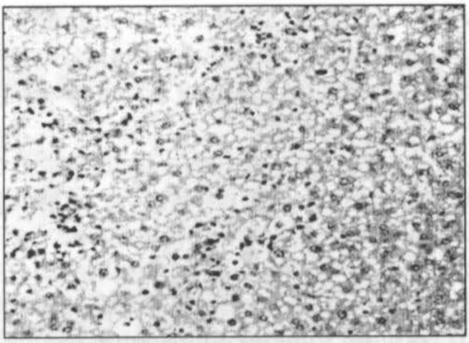


Fig. 3.1.1.7 Parenchim hepatic cu modificări degenerative difuze de tip hidropic ale hepatocitelor (1), necroza hepatică în focar (2). Coloraţie hematoxilină-eozină. x100.

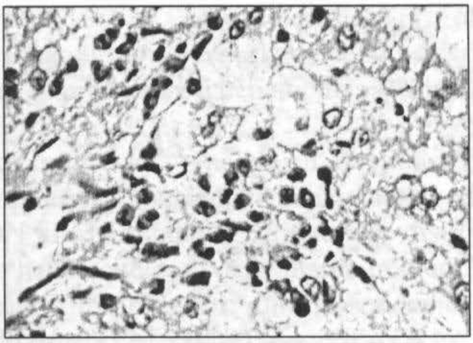


Fig. 3.1.1.8 Parenchim hepatic adiacent venei centrale. Se depistează focarul de infiltrat inflamator cronic mononuclear, corpusculi apoptotici formaţi în urma apoptozei hepatocitelor pe fundalul degenerării hidropice a hepatocitelor. Coloraţie hematoxilină-eozină. x400.

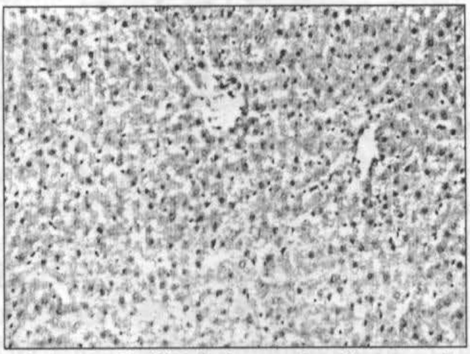


Fig. 3.1.1.9 Modiificări proteice degenerative de grad uşor ale parenchimului hepatic din zona centrolobulară. Coloraţie hematoxilină-eozină. x100.

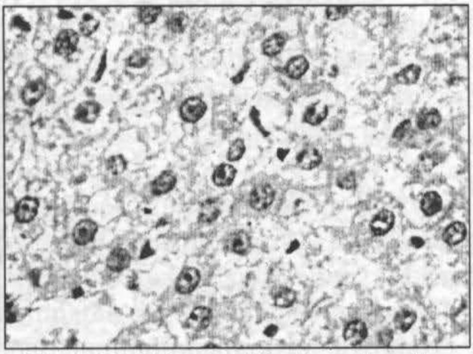


Fig. 3.1.1.10 Parenchim hepatic adiacent venei centrale. Modiificări proteice degenerative de grad uşor ale hepatocitelor. Coloraţie hematoxilină-eozină. x400.

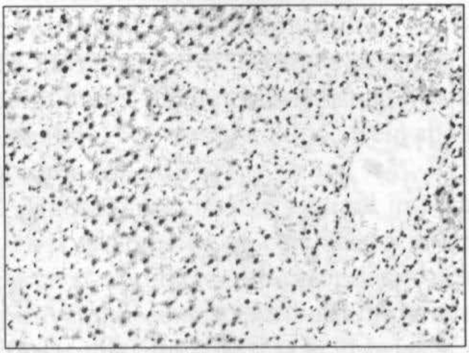


Fig. 3.1.1.11 Modificări degenerative şi necrobiotice ale hepatocitelor, în regiunea centrolobulară. Păstrarea integrităţii hepatocitelor din zona periferică. Coloraţie hematoxilină-eozină. x100.

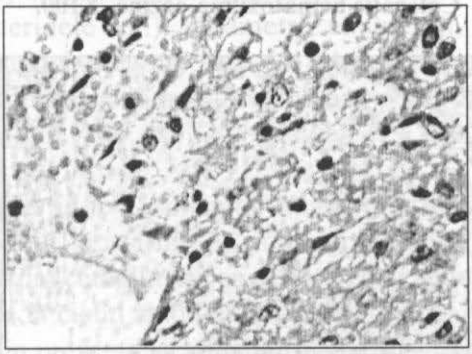


Fig. 3.1.1.12 Parenchimul hepatic adiacent venei centrale. Se depistează corpusculii apoptotici formaţi în urma apoptozei hepatocitelor pe fundalul degenerării proteice a hepatocitelor. Se remarcă lipsa infiltratului inflamator. Coloraţie hematoxilină-eozină. x400.

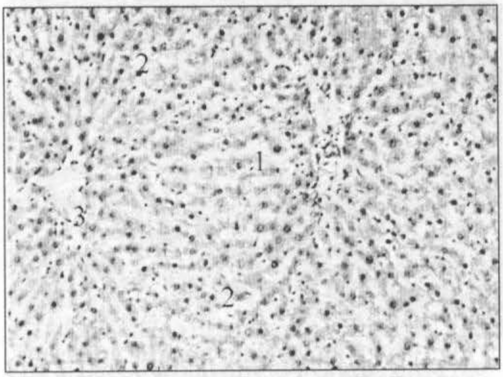


**Fig. 3.1.1.13 Parenchim hepatic, lipsa modificărilor morfologice: 1-placa portală; 2-limitele lobulului hepatic; 3- vena centrală. Coloraţie hematoxilină-eozină. x100.**

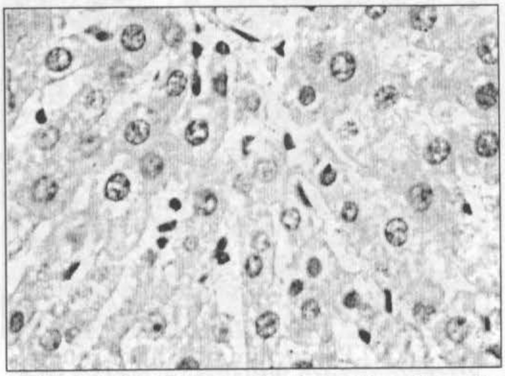


**Fig. 3.1.1.14 Parenchim hepatic adiacent venei centrale. Coloraţie hematoxilină-eozină. x400.**

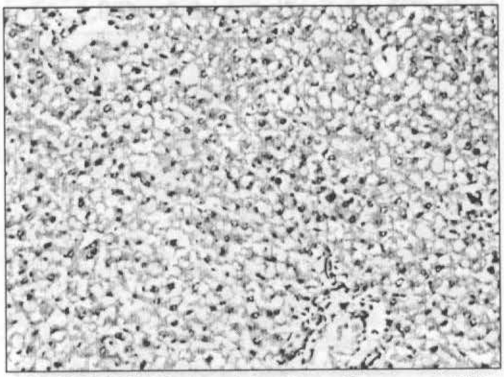


**Fig. 3.1.1.15 Parenchim hepatic cu modificări degenerative difuze de tip hidropic ale hepatocitelor (2), necroza hepatică în focar (3), 1-vena centrală a lobulului hepatic. Coloraţie hematoxilină-eozină. X100.**

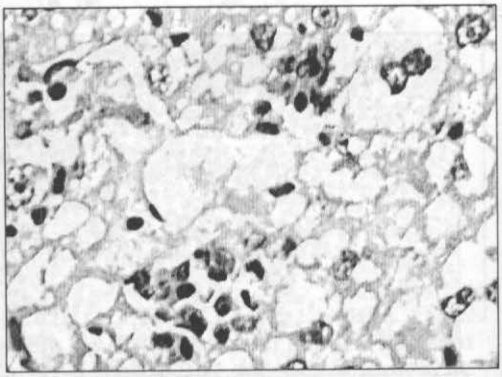


**Fig. 3.1.1.16 Necroză focală a hepatocitelor pe fundalul degenerării hidropice severe a parechimului hepatic. Coloraţie hematoxilină-eozină. x400.**

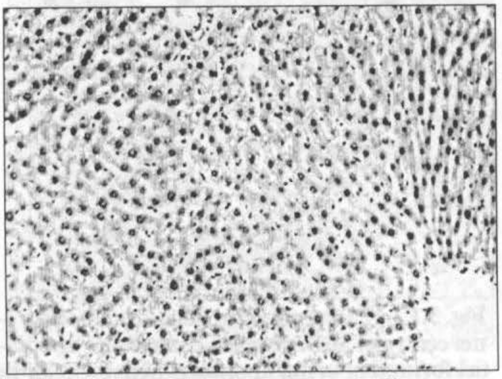


**Fig. 3.1.1.17 Parenchim hepatic, lipsa modificărilor morfologice. Coloraţie hematoxilină-eozină. x100.**

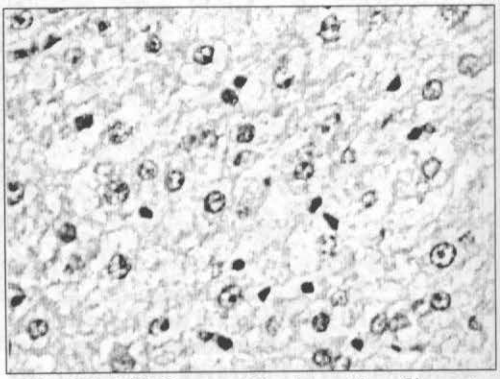


**Fig. 3.1.1.18 Parenchim hepatic adiacent plăcii portale. Coloraţie hematoxilină-eozină. x400.**

Dereglările morfologice în ficat, provocate de $CCl_4$, se caracterizează prin majorarea semnificativă a indicelui necrotic şi apoptotic cu prevalarea celui necrotic, cu o diminuare a indicelui mitotic şi vitezei de proliferare a hepatocitelor (Козлова М.А. и др., 2011).

Cercetările histologice şi histochimice în ficat la animalele cu afecţiunea hepatică prin $CCl_4$ au remarcat: cromatoliza centrală în nucleolele hepatocitelor până la carioliză; micşorarea conţinutului ADN şi fosfolipidelor structurale; distrofia proteică şi lipidică în citoplasmă; necroza hepatocitelor şi dezvoltarea în locul lor a ţesutului granular; intensificarea proliferării fibroblaştilor; diminuarea indicelui mitotic şi numărului celulelor diploide (Ипатова О.М., 2005).

Paracetamolul produce modificări morfologice în ficat dependente de doză, utilizarea factorilor de protecţie, particularităţile genetice individuale. Astfel, la administrarea paracetamolului în doza de 500 mg/kg intraperitoneal la şobolani în ficat s-a depistat peste 24 ore degenerarea vacuolică (hidroptică), dilatarea sinusoidelor şi staza în ele, degenerarea nucleului, necroza şi inflamaţia cu infiltrarea mononucleară. Dereglările morfologice corelau cu hiperfermentemia (majorarea activităţii AsAT, AlAT, FAl), activarea enzimelor citocromului P-450 şi depleţia GSH. Efectul protector al silimarinei şi *Gymnosporia matena* se baza pe creşterea nivelului GSH şi supresia citocromului P-450 (Garba S.H.et al., 2009, Patel P.B.et al., 2010).

Tetracolrura de carbon şi paracetamolul pot produce lezarea ficatului cu manifestarea sindromului de citoliză (necroză centrolobulară), colestază, inflamaţie mezenchimală, diminuarea funcţiei detoxicante şi de sinteză. În mare masură acestea sunt confirmate prin determinarea enzimelor specifice şi/sau caracteristice: alaninaminotransferazei, aspartataminotransferazei, fosfatazei alcaline, γ-glutamiltranspeptidazei, lactatdehidrogenazei, precum şi a unor indici biochimici care caracterizează starea metabolismului glucidic (glucoza), proteic (proteinele totale, albumina, globulinele, uree, creatinina, factorii de coagulare etc.) şi lipidic (colesterolul total, trigliceridele etc.). Parametrii enumeraţi, de rând cu constatarea leziunii hepatice, sunt indicatori care se folosesc pentru determinarea eficacităţii substanţelor studiate ca hepatoprotectoare potenţiale (Ghicavîi V. şi coaut., 2006, Венгеровский А.И., 2002, Хабриев Р.У., 2005, Доркина Е.Г., 2010).

Transaminazele sunt enzime importante în metabolismul intermediar al glucozei şi proteinelor ce catalizează reversibil transferul alfa-aminogrupelor de la aspartat şi alanină la alfa-cetogrupele acidului cetoglutaric cu generarea oxalatului şi piruvatului ce au contribuţii importante la ciclul acidului citric. Acidul piruvic şi oxalacetic sunt reduşi la acid L-lactic (în prezenţa lactatdehidrogenazei - LDH) sau acid L-malic (în prezenţa malatdehidrogenazei - MDH). În reglarea activităţii transaminazelor participă piridoxal-6-fosfatul, iar deficienţa acestuia este mai importantă pentru activitatea AlAT decât AsAT. Astfel, la bolnavii cu boala alcoolică a ficatului, cu deficit de piridoxal-6-fosfat, se micşorează activitatea AlAT cu creşterea raportului de Ritis (AsAT/AlAT) (Grigorescu T., 2004, Giannini E.G.et al., 2005, Gowda S.et al., 2009, Бабак О.Я., 2006).

Transaminazele sunt markeri ai afecţiunilor hepatice utilizaţi în studiile preclinice şi clinice. Intensitatea creşterii activităţii transaminazelor se consideră ca mică dacă aceasta se măreşte până la 5 norme, moderată – 5-10 norme şi marcată – peste 10 norme. Această subdivizare convenţională poate releva tipul afecţiunii hepatice şi contribui la stabilirea etiologiei acesteia. Astfel, majorarea peste 10 ori a activităţii transaminazelor este caracteristică pentru maladiile acute ale ficatului (infecţii virale, leziuni ischemice sau toxice etc.) (Grigorescu T., 2004, Giannini E.G.et al., 2005).

**Aspartataminotransferaza** sau glutamat-oxaloacetat transaminaza este prezentă sub 2 forme, determinate genetic, fracţia mitocondrială (80%) şi citoplasmatică (20%). Concentraţiile cele mai mari se disting în miocard, după care urmează ficatul, muşchii scheletici, rinichii, creierul, pancreasul, pulmonii, eritrocitele şi leucocitele (Giannini E.G.et al., 2005, Gowda S.et al., 2009, Бабак О.Я., 2006). Din aceste considerente, în procesele inflamatoare uşoare sau moderate se constată o creştere nesemnificativă a activităţii AsAT datorită fracţiei citoplasmatice. În acelaşi timp, majorarea importantă a activităţii AsAT este determinată de procesele necrotice (afecţiuni ischemice şi toxice ale ficatului) cu ieşirea fracţiei mitocondriale. Concomitent, această situaţie se poate constata în infarctul acut de miocard, hemoliza eritrocitelor etc. În ficat în zona III a acinusului hepatic se determină o concentraţie mai mare a AsAT şi afectarea acestei zone de tip ischemic sau toxic va fi responsabilă de majorarea activităţii acestei transaminaze. Turnoverul (perioada de înjumătăţire) a AsAT totale este determinată de activitatea celulelor endoteliale şi constituie 17 ore, iar pentru fracţia mitocondrială – 87 ore (Grigorescu T., 2004, Giannini E.G.et al., 2005, Gowda S.et al., 2009, Бабак О.Я., 2006).

**Alaninaminotransferaza** sau glutamat-piruvat transaminaza este enzima cu o specificitate mai mare pentru ficat decât AsAT, deoarece cea mai mare cantitate se găseşte în ficat, iar niveluri mai mici în intestin, rinichi, pancreas, miocard, muşchii scheletici. Alaninaminotransaferaza este o enzimă preponderent citoplasmatică, din care considerente creşterea activităţii se apreciază ca specifică afecţiunilor hepatice. Turnoverul enzimei este de circa 47 ore (Grigorescu T., 2004, Giannini E.G.et al., 2005, Gowda S.et al., 2009, Бабак О.Я., 2006).

Actualmente s-au evidenţiat 2 izoenzime - AlAT1 şi AlAT2, care au fost clonate şi sunt distribuite similar la animalele de laborator (şoricei, şobolani etc.) şi om. Astfel, AlAT1 în cantităţi mari se conţine în ficat şi intestinul subţire, moderate – în ţesutul adipos, muşchii scheletici şi colon, mici – rinichi şi creier, iar AlAT2 în cantităţi mari în ficat şi muşchii scheletici, moderate – ţesutul adipos alb şi creier şi mici – inimă, rinichi şi colon. Izoenzima AlAT1 se consideră citoplasmatică, iar AlAT2 – mitocondrială, iar raportul dintre ele poate sugera nivelul leziunilor hepatice (Rong-Ze Yang et al., 2009).

În studiile experimentale s-a determinat activitatea AsAT, AlAT, raportul de Ritis (AlAT/AsAT) indicele de hepatoprotecţie şi coeficientul de activitate hepatoprotectoare.

Rezultatele experienţelor au demonstrat că administrarea intraperitoneală a $CCl_4$ în doză unică a contribuit la creşterea marcată a activităţii transaminazelor (AlAT – de 2,7 ori şi AsAT - de 3,2 ori) în ser (tab.3.1.1.3). Utilizarea preventivă timp de 7 zile a preparatelor entomologice a diminuat acţiunea hepatotoxică a $CCl_4$. Astfel, administrarea entoheptinului s-a soldat cu micşorarea activităţii AlAT de la 159,09±23,22 până la 123,96±10,86 uc/l (P>0,05). În condiţii similare imuheptinul şi imuheptinul au contribuit la reducerea activităţii AlAT respectiv de la 159,09±23,22 până la 101,37±5,83 şi 95,78±18,08 uc/l (P>0,05) sau de 1,3 ori şi de 1,7 ori. Preparatele entomologice mai puţin au influenţat activitatea AsAT (tab.3.1.1.3). În acest caz mai efectiv preîntâpina majorarea activităţii transaminazei imupurinul, urmat de imuheptin şi entoheptin.

La administrarea paracetamolului în doză unică de 500 mg/kg intraperitoneal peste 24 ore s-a depistat o majorare semnificativă de circa 3 ori a activităţii AlAT şi de 1,7 ori a AsAT (tab.3.1.1.4). Date similare la doza respectivă de analgezic au fost constatate la şobolani (Garba S.H. et al., 2009, Patel P.B.et al., 2010, ) şi şoricei (Tinel M.et al., 2004, Valentovic M.et al., 2004, Lee J.W.et al., 2009, Girish C.et al., 2009, Nagi M.N.et al., 2010 ). Pretratamentul cu preparatele entomologice timp de o săptămână a contribuit la preîntâmpinarea majorării activităţii AlAT, ea fiind practic la nivelul animalelor intacte. (tab.3.1.1.4). Administrarea dozei toxice de paracetamol pe fundalul pretratamentului cu entoheptin, imuheptin şi imupurin nu a influenţat semnificativ activitatea AsAT (tab.3.1.1.4). Am remarca totuşi că majorarea activităţii AsAT în ser, în comparaţie cu animalele din lotul de control, a fost mai mică la folosirea imupurinului, apoi a imuheptinului şi entoheptinului.

**Raportul de Ritis** se consideră un indice mai informativ ca activitatea fiecărei transaminaze, îndeosebi în condiţii clinice (Gowda S.et al., 2009). Introducerea la animalele de laborator a dozei de 0,4 ml/kg $CCl_4$ intraperitoneal s-a soldat cu majorarea raportului de Ritis de la 2,74 până la 3,19 datorită creşterii activităţii AsAT de 3,2 ori, iar a AlAT de 2,7 ori. Administrarea $CCl_4$ pe fundalul pretratamentului cu entoheptin timp de 7 zile a relevat o majorare a raportului de Ritis atât în comparaţie cu lotul intact, cât şi cel de control (tab.3.1.1.3). Entoheptinul, în aceste condiţii, a contribuit la creşterea raportului de Ritis datorită unei reduceri mai accentuate a activităţii AlAT (de 1,3 ori), fără a modifica esenţial activitatea AsAT (micşorarea de 1,03 ori) faţă de lotul de control. Efect similar s-a constatat şi în cazul pretratamentului cu inuheptin şi imupurin, când indicele cercetat se majora respectiv până la 4,67 şi 4,75 pe fundalul unei reduceri mai importante a activităţii AlAT (de 1,6 şi 1,7 ori) în comparaţie cu AsAT (de 1,1 şi 1,12 ori). Aceste date, în cazul imuheptinului, parţial au fost confirmate şi morfologic, ceea ce ne denotă o ameliorare a dereglărilor histologice produse de $CCl_4$.

*Tabelul 3.1.1.3*

**Modificarea activităţii AlAT şi AsAT în ser, indicelui de hepatoprotecţie (IH), coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH şi raportului de Ritis sub influenţa prepartelor entomologice în afecţiunea hepatică toxică indisă prin tetraclorura de carbon**

| Nr. d/o | Grupele | Numărul şobolanilor | AsAT U/l | IH % | C A H | AlAT U/l | IH % | C A H | Raportul de Ritis |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Intact | 12 | 159,12± 11,38 | | | 58,02±6,18 | | | 2,74 |
| 2 | $CCl_4$ (0,4 ml/kg ) | 7 | 507,93+114,75<br>$P_{1-2} < 0,001$ | | | 159,09±23,22<br>$P_{1-2} < 0,001$ | | | 3,19 |
| 3 | Entoheptin (50 g/100g) 7 zile + $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 9 | 494,85± 92,67<br>$P_{1-3} < 0,001$<br>$P_{2-3} > 0,05$ | 4 | 0,03 | 123,96±10,86<br>$P_{1-3} < 0,001$<br>$P_{2-3} > 0,05$ | 35 | 0,28 | 3,97 |
| 4 | Imuheptin (50mg/100g) 7 zile + $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 10 | 473,4 ± 59,74<br>$P_{1-4} < 0,001$<br>$P_{2-4} > 0,05$ | 11 | 0,07 | 101,37±5,83<br>$P_{1-4} < 0,001$<br>$P_{2-4} > 0,05$ | 58 | 0,57 | 4,67 |
| 5 | Imupurin (50mg/100g) 7 zile + $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 10 | 454,6 + 31,63<br>$P_{1-5} < 0,001$<br>$P_{2-5} > 0,05$ | 15 | 0,12 | 95,78±18,08<br>$P_{1-5} < 0,05$<br>$P_{2-5} > 0,05$ | 63 | 0,66 | 4,75 |

Administrarea dozelor toxice de paracetamol s-a soldat cu micşorarea raportului de Ritis în comparaţie cu lotul intact de la 2,74 până la 1,58 datorită faptului că activitatea AsAT a crescut de 1,8 ori, iar cea a AlAT de 3,1 ori. Pretratamentul cu entoheptin timp de 7 zile a contribuit la majorarea raportului de Ritis atât faţă de animalele intacte, cât şi faţă de cele din lotul de control (tab.3.1.1.4). E necesar de menţionat că acesta a crescut preponderent pe baza diminuării activităţii AlAT (de 2,9 ori) şi care era practic la nivelul şobolanilor din lotul intact, în timp ce activitatea AsAT s-a micşorat neesenţial (de 1,14 ori). Situaţie similară s-a constatat şi în cazul pretratamentului animalelor cu imuheptin şi imupurin când majorarea raportului de Ritis a fost cauzată de reducerea activităţii AlAT, respectiv de 2,3 şi 2,8 ori, pe fundalul unei diminuări doar de 1,13 şi 1,3 ori a activităţii AsAT.

Pretratamentul cu preparatele entomologice nu a influenţat semnificativ majorarea activităţii AsAT provocată de $CCl_4$, fapt ce s-a relevat printr-un IH şi CAH mic pentru entoheptin, imuheptin şi imupurin (tab.3.1.1.3). În acelaşi timp, preparatele cercetate au diminuat semnificativ activitatea AlAT, demonstrată prin majorarea IH (entoheptin - 35%, imuheptin -58% şi imupurin - 63%) şi CAH (entoheptin – 0,28, imuheptin – 0,57 şi imupurin – 0,66). În condiţii similare, pretratamentul cu preparatele entomologice a determinat efecte mai benefice asupra hepatotoxicităţii paracetamolului. Astfel, IH la entoheptin a constituit 30% faţă de AsAT şi 97% de AlAT, la imuheptin 27% şi 82%, iar la imupurin – 56% şi 96% respectiv. Concomitent s-a demonstrat şi o evoluţie benefică a CAH, îndeosebi faţă de activitatea AlAT (tab.3.1.1.4).

*Tabelul 3.1.1.4*

**Modificarea activităţii ALAT şi ASAT în ser, indicelui de hepatoprotecţie (IH), coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH şi raportului de Ritis sub influenţa preparatelor entomologice în afecţiunea hepatică toxică indusă prin paracetamol**

| Nr. d/o | Grupele | Numărul şobolanilor | AsAT | IH % | C A H | AlAT | IH % | **C A H** | Raportul de Ritis |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. | Intact | 12 | 159,12 ± 11,38 | | | 58,02+6,18 | | | 2,74 |
| 2. | Paracetamol 500 mg/kg | 7 | 284,42 ± 34,81<br>$P_{1-2} < 0,05$ | | | 179,01+29,76<br>$P_{1-2} < 0,001$ | | | 1,58 |
| 3. | Entoheptin (50 mg/100g) 7 zile + paracetamol 500 mg/kg | 10 | 247,1 ± 13,03<br>$P_{1-3} < 0,001$<br>$P_{2-3} > 0,05$ | 30 | 0,15 | 61,7+8,75<br>$P_{1-3} > 0,05$<br>$P_{2-3} < 0,05$ | 97 | 1,9 | 4,0 |
| 4. | Imuheptin (50mg/100g) 7 zile + paracetamol 500 mg/kg | 10 | 250,5 ± 23,32<br>$P_{1-4} < 0,05$<br>$P_{2-4} > 0,05$ | 27 | 0,13 | 79,33±9,48<br>$P_{1-4} > 0,05$<br>$P_{2-4} < 0,05$ | 82 | 1,25 | 3,15 |
| 5. | Imupurin (50mg/100g) 7 zile + paracetamol 500 mg/kg | 10 | 214,16 ± 13,84<br>$P_{1-5} < 0,05$<br>$P_{2-5} > 0,05$ | 56 | 0,33 | 63,8+7,27<br>$P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{2-5} < 0,05$ | 96 | 1,8 | 3,35 |

Analiza rezultatelor obţinute în baza activităţii transaminazelor, raportului de Ritis, IH şi CAH ne-a permis să concluzionăm că preparatele entomologice previn practic totalmente efectele hepatotoxice ale paracetamolului, în timp ce cele ale $CCl_4$ sunt ameliorate de imuheptin şi, parţial, de imupurin. Aceste date sunt în concordanţă cu modificările histologice relatate. Efectul hepatoprotector al preparatelor entomologice este determinat de diminuarea şi/sau normalizarea activităţii AlAT, o enzimă citoplasmatică specifică afecţiunilor hepatice, în timp ce activitatea AsAT se modifică neesenţial. Posibil, aceasta se datorează faptului că majorarea activităţii AsAT să fie şi de altă geneză (cardiacă, musculară etc.) cauzată de toxicitatea sistemică a $CCl_4$ şi paracetamolului. Astfel, s-a constatat că analgezicul induce un stres oxidativ cu creşterea POL şi micşorarea activităţii sistemului antioxidant de rând cu ficatul şi în cord, pulmoni, rinichi, creier, care este însoţit de o hiperfermentemie, hiperbilirubinemie, hipoproteinemie, hiperuricemie şi hematotoxicitate (Yousef M.et al., 2010). Modelarea afecţiunii hepatice prin $CCl_4$ şi paracetamol s-a soldat cu o majorare practic identică a activităţii AlAT, în timp ce în cea cu $CCl_4$ s-a constatat o creştere mai importantă a activităţii AsAT, însoţită de o necroză centrolobulară, fapt ce nu s-a depistat la dozele subletale de paracetamol (500 mg/kg). Astfel, dozele toxice de $CCl_4$ produc o hiperfermentemie pe baza fracţiilor citoplasmatice (preponderent ale AlAT şi mai puţin AsAT) şi mitocondriale (preponderent AsAT). În acelaşi timp hepatotoxicitatea paracetamolului se manifestă preponderent prin creşterea fracţiei citoplasmatice a AlAT şi mai puţin a AsAT. Ultima poate avea şi o geneză extrahepatică, deoarece în cazul pretratamentului cu preparatele entomologice sunt preîntâmpinate dereglările morfologice cu normalizarea activităţii AlAT.

Analiza literaturii ne-a relevat că $CCl_4$, în diferite doze şi căi de administrare, deja peste 24 ore provoacă o majorare a activităţii AsAT şi AlAT (Feng Y.et al., 2010, Ranawat L.et al., 2010, Yang J.et al., 2010, Nada S.A. et al., (2010), Raghavendra R et.al., 2010, Sindhu E.R. et al., 2010, Ahmed F., Urooj A., 2010, Kamel H.H.et al., 2010, Mahesch A et al., 2010, Hsu Y.W. et al., 2010, Akindele A.J. et al., 2010, Raj V.P.et al., 2010, Park C.M.et al., 2010, Shim J.Y.et al., 2010, Jing-Ying Xu et al., 2010, Uzma N.et al., 2010, Sahreen S.et al., 2011, Bashandy S.A., AlWesel S.H., 2011, Verma N.et al., 2011, Karwani G.Sisodia S.S., 2011, Lima de Medeiros B.J.et al., 2011, Domitrovic R.et al., 2011, Nema A.K.et al., 2011).

Tetraclorura de carbon, în doză unică de 1,5 ml/kg intern, a provocat peste 24 ore o creştere a activităţii AsAT şi AlAT, efect care a fost anihilat de silimarină. Se consideră că preparatul manifestă acţiune antioxidantă prin incorporarea în structurile membranelor celulare cu modificarea proprietăţilor fizico-chimice, protejarea antioxidanţilor fiziologici (GSH, SOD) şi păstrarea funcţiilor lor. Acţiune similară pot manifesta flavonoizii, antocianidele, flavonii, fitosterolii, taninele din plante vegetale, care pot creşte metabolismul energetic (Lima de Medeiros B.J.et al., 2011).

Hepatita toxică acută, indusă prin $CCl_4$, a determinat o majorare a activităţii AsAT şi AlAT, care a fost normalizată la pretratamentul timp de 7 zile cu preparate vegetale ce conţin alcaloizi izochinolinici, flavonoizi, compuşi fenolici, ce manifestă efect antioxidant (Ranawat L.et al., 2010, Yang J.et al., 2010, Nema A.K.et al., 2011).

Peste 24 ore după administrarea $CCl_4$ s-a depistat o intensificare a activităţii transaminazelor în ser. Pre- şi posttratamentul cu berberină a atenuat hiperfermentemia indusă de hepatotoxic într-o maneră dozo-dependentă (Feng Y.et al., 2010).

La administrarea $CCl_4$, în doza de 1,5 ml/kg intraperitoneal, s-a constatat o creştere a activităţii transaminazelor ce corela cu modificările histologice. Fitopreparatele ce conţin alcaloizi, flavonoizi şi alţi compuşi sunt capabile să reducă hepatotoxicitatea $CCl_4$ şi acetaminofenului datorită efectului antioxidant sau captării radicalilor lipidici, precum şi prin acţiunea membranostabilizatoare cu preîntâmpinarea formării defectelor în membranele hepatocitelor (Adeneye A,.A.,2009).

Afecţiunea hepatică indusă prin $CCl_4$ (0,5 şi 1 ml/kg în doză unică) a determinat majorarea activităţii transaminazelor cauzată de acţiunea radicalilor liberi ($CCl_3^*$, $CCl_3OO^*$) asupra fosfolipidelor membranare cu formarea şi acumularea de derivaţi lipidici oxidaţi cu dereglarea funcţiilor şi integrităţii membranelor celulare (Raj V.P.et al., 2010, Jing-Ying Xu et al., 2010, Sahreen S.et al., 2011, Bashandy S.A., AlWesel S.H., 2011, Verma N.et al., 2011, Karwani G.Sisodia S.S., 2011). Autorii consideră că un rol important îl are depleţia GSH şi activităţii enzimelor antioxidante, ca consecinţă a hepatotoxicităţii $CCl_4$, iar preparatele ce vor restabili nivelul GSH şi activitatea enzimelor vor manifesta proprietăţi antioxidante.

În studiile *in vitro* s-a constatat o creştere a transaminazelor în mediul culturii celulelor între 14-48 ore. Utilizarea tocoferolului, dar nu şi a acidului ascorbic, manitolului, aminoguaninei, a redus eliberarea enzimelor din hepatocite. E necesar de menţionat că eliberarea de AsAT era mai mare decât AlAT, posibil, datorită gradului de cuplare a fracţiei citozolice cu organelele intracelulare (Kamel H.H.et al., 2010).

Ginsanul, un polizaharid din *Panax ginseng* cu proprietăţi imunomodulatoare, a prevenit hepatotoxicitatea $CCl_4$, inclusiv creşterea activităţii AsAT şi AlAT, prin reglarea stresului oxidativ şi a răspunsului inflamator (Shim J.Y.et al., 2010).

Polifenolii din măr la pretratamentul timp de 7 zile au prevenit majorarea activităţii transaminazelor, cauzată de stresul oxidativ, indus de $CCl_4$ (Yang J.et al., 2010).

Selenocisteina a preîntâmpinat hepatotoxicitatea $CCl_4$ prin micşorarea activităţii transaminazelor şi reducerii stresului oxidativ. Se consideră, că efectul hepatoprotector este determinat de activitatea antioxidantă (reducerea formării speciilor reactive ale oxigenului şi nivelului DAM, restabilirea conţinutului GSH şi activităţii enzimelor antioxidante), imunomodulatoare şi antiinflamatoare (normalizarea activităţii COX-2 şi nivelului IL-6, IL-10, IgG şi CD4) şi reglarea expresiei CYP 2E1 (Uzma N.et al., 2010).

Proteina purificată din *Bombyx mori* a manifestat efect hepatoprotector faţă de afecţiunea hepatică indusă de $CCl_4$ prin micşorarea activităţii transaminazelor datorită efectului antioxidant, demonstrat *in vitro* prin capacitatea de captare a radicalilor liberi şi anionului superoxid (Raghavendra R.et al., 2010).

Studiile experimentale au relevat o creştere a activităţii transaminazelor după o singură doză de paracetamol la administrarea intraperitoneală (în diapazon de la 150 mg/kg până la 1000 mg/kg) şi internă (diapazon de la 200 mg/kg până la 2500 mg/kg) la şobolani şi şoricei. E necesar de menţionat că majorarea activităţii AsAT şi AlAT se constata deja peste 4 ore (Yalcin S.et al., 2008, Terneus M.V.et al., 2008, Arafa H.M., 2009, Rasool M.K.et al., 2010), 8 ore (Yalcin S.et al., 2008, Lee J.W.et al., 2009), 12 ore (Wu Y.L.et al., 2008, Hsu C.C.et al., 2008, Saito C.et al., 2009), 24 ore (Yalcin S.et al., 2008, Girish C.et al., 2009, Kanbur M.et al., 2009, Wilhelm E.A.et al., 2009), 48 ore (Yalcin S.et al., 2008, Oyaghebemi A.A., Odetala A.A.,2010) şi 72 ore (Al-Sowyan N.S., 2009). Hiperfermentemia este determinată de dereglarea integrităţii membranelor celulare şi intracelulare ale hepatocitelor, care poate fi cauzată de: formarea metabolitului toxic (NAPQI) şi aductelor lui în urma cuplării cu proteinele celulare; eliberarea speciilor reactive ale oxigenului, azotului cu iniţierea POL; depleţia intracelulară de ATP şi GSH; majorarea concentraţiei intracelulare a calciului şi diminuarea activităţii Ca-ATP-azei; inducerea apoptozei şi necrozei.

Paracetamolul provoca o majorare a activităţii AsAT şi AlAT între 6 şi 24 ore, ce indică despre citoliza hepatocitelor. Acest efect era asociat cu o creştere a nivelului hemoglobinei (Hinson S.A.et al., 2010).

Activitatea AsAT şi AlAT s-a intensificat peste 6-12 ore după administrarea intraperitoneală a paracetamolului în dozele de 300 şi 350 mg/kg. Utilizarea N-acetilcisteinei (NAC) şi salidrosidului a preîntâmpinat hepatotoxicitatea analgezicului prin micşorarea activităţii transaminazelor, ce corela cu restabilirea nivelului GSH şi reducerea DAM în ficat (Hsu C.C.et al., 2008, Wu Y.L.et al., 2008, Saito C.et al., 2009).

Administrarea paracetamolului la şoricei în doza de 250 mg/kg intraperitoneal a crescut activitatea AlAT deja peste 4 ore. În aceste condiţii SAM şi NAC au redus efectul analgezicului relevat şi prin restabilirea nivelului GSH şi micşorarea celui a proteinelor carbonilice şi 4-hidroxinonenalelor în ficat (Terneus M.V.et al., 2008).

Analgezicul în doze toxice letale (900 mg/kg i/p) la şoricei a majorat activitatea AsAT şi AlAT în plasmă deja peste 4 ore, care era însoţită de intensificarea POL şi diminuarea activităţii sistemului antioxidant în ficat. Antioxidanţii (silimarina, acidul garlic) au redus hiperfermentemia prin anihilarea stresului oxidativ, micşorarea POL şi creşterea activităţii enzimelor antioxidante (Rasool M.K.et al., 2010).

Paracetamolul în doza de 500 mg/kg intraperitoneal la şoricei a determinat o creştere a activităţii AlAT prin inducerea stresului oxidativ şi nitrozactiv (depleţia GSH şi ATP, majorarea NO). Pretratamentul cu timochin a normalizat activitatea transaminazei prin anihilarea stresului oxidativ şi nitrozactiv cu majorarea producerii de energie de către mitocondrii (Nagi M.N.et al., 2010).

Silimarina şi extractul din *Phyllanthus polyphyllus* (conţine flavonoizi) au redus activitatea transaminazelor în afecţiunea hepatică indusă de paracetamol datorită efectului membranostabilizator şi antioxidant (Rajkapoor B.et al., 2008). Pretratamentul cu silimarină a micşorat semnificativ activitatea AsAT şi AlAT la administrarea dozei de 2 g/kg de paracetamol (Lahon K., Das S., 2011).

Extractul din propolis a manifestat efect hepatoprotector la doza toxică de paracetamol (2 g/kg) cu diminuarea activităţii transaminazelor prin intensificarea activităţii antioxidante datorită compuşilor fenolici pe care îi conţine (Nirala S.K., Bhadauria M., 2008).

**Lactatdehidrogenaza** (LDH) reprezintă o enzimă citoplasmatică din grupa celor glicolitice ce catalizează reversibil oxidarea acidului lactic în acid piruvic. În plasmă se detectează cinci izoenzime, pentru ficat fiind caracteristice fracţiile IV şi V, bogate în subunităţi musculare (M). Aceste fracţii sunt responsabile de procesele glicolitice anaerobe, ce au loc preponderent în ficat, muşchii scheletici, epiderm, ţesuturi neoplazice. Lactatdehidrogenaza are o specificitate mică pentru ficat, chiar şi în hepatitele acute majorarea constituind 1-2 norme. Mai importantă poate fi majorarea LDH (mai mare, dar şi mai scurtă) în ischemia hepatică, în timp ce creşterea de durată este caracteristică (de rând cu fosfataza alcalină) pentru infiltrarea ficatului cu celule neoplazice (Grigorescu T., 2004, Бабак О.Я., 2006).

Activitatea LDH la administrarea dozelor toxice de $CCl_4$ manifesta o tendinţă de majorarea de la 2992,5±172,9 până la 3143,5±252,5 ($P > 0,05$). Preparatele entomologice, utilizate timp de 7 zile până la expunerea animalelor acţiunii dozelor toxice de hepatotoxic, au contribuit la micşorarea semnificativă a activităţii LDH în ser, atât faţă de animalele din lotul de control, cât şi cele intacte, date confirmate prin IH şi CAH (tab.3.1.1.5).

Un şir de autori au relatat date similare despre majorarea activităţii LDH peste 24 ore după administrarea $CCl_4$ în diferite doze (Shahjahan M et al. ,2005, Singab A.N. et al., 2005, Bhadauria M. et al., 2007, Kang K.S.et al., 2008, Wang T.et al., 2008, Mochizuki M.et al., 2009, Park C.M.et al., 2010, Oh P.S.et al., 2010, Jadhav V.B.et al., 2010, Donfack J.H.et al., 2010,, Alisi C.S.et al., 2011, Sahreen S.et al., 2011).

*Tabelul 3.1.1.5*

**Modificarea activităţii GGTP şi LDH în ser, indicelui de hepatoprotecţie (IH) şi coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) sub influenţa preparatelor entomologice în afecţiunea hepatică toxică indusă prin tetraclorura de carbon**

| Nr. d/o | Grupele | Numărul şobolanilor | LDH U/l | IH % | C A H | GGTP nmol/s-l | IH (%) | C A H |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Intact | 12 | 2992,5+172,9 | | | 5,19±0,38 | | |
| 2 | $CCl_4$ (0,4 ml/kg ) | 7 | 3143,5±262,5<br>$P_{1-2} > 0,05$ | | | 6,41±0,62<br>$P_{1-2} > 0,05$ | | |
| 3 | Entoheptin (50 mg/100g) 7 zile + $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 9 | 1805,7±131,8<br>$P_{1-3} < 0,05$<br>$P_{2-3} < 0,05$ | 87 | 0,74 | 5,65+0,28<br>$P_{1-3} > 0,05$<br>$P_{2-3} > 0,05$ | 63 | 0,13 |
| 4 | Imuheptin (50mg/100g) 7 zile + $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 10 | 1980,9±131,3<br>$P_{1-4} < 0,05$<br>$P_{2-4} < 0,05$ | 85 | 0,59 | 4,77±0,52<br>$P_{1-4} > 0,05$<br>$P_{2-4} > 0,05$ | 134 | 0,34 |
| 5 | Imupurin (50mg/100g) 7 zile + $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 10 | 2024,8±95,1<br>$P_{1-5} < 0,05$<br>$P_{2-5} < 0,05$ | 84 | 0,55 | 6,13±0,44<br>$P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{2-5} > 0,05$ | 23 | 0,04 |

Paracetamolul în doza de 500 mg/kg provoca o micşorare neesenţială a activităţii LDH în ser (tab.3.1.1.6). La administrarea hepatotoxicului pe fundalul pretratamentului cu entoheptin, imuheptin şi imupurin activitatea enzimei respective s-a menţinut la un nivel mai mic ca la şobolanii intacţi şi cei cu afecţiune hepatică experimentală. Aceasta a fost confirmată prin IH şi CAH (tab.3.1.1.6).

Datele despre modificarea activităţii LDH în ser la modelarea afecţiunii hepatice prin paracetamol sunt contradictorii. În majoritatea cazurilor se constată majorarea (Yalcin S.et al., 2008, Wilhelm E.A.et al., 2009. Das J.et al., 2010, Yousef M.I.et al., 2010), iar în unele situaţii - micşorarea activităţii LDH (Al-Sowyan N-.S., 2009). Astfel, administrarea internă a unei doze de 640 mg/kg de hepatotoxic la şobolani s-a soldat peste 72 ore cu reducerea activităţii LDH în ser (Al-Sowyan N-.S., 2009). Acest efect al analgezicului, posibil, poate fi explicat prin dezvoltarea ischemiei hepatice şi creşterea eliberării speciilor reactive intermediare de macrofage.

*Tabelul 3.1.1.6.*

**Modificarea activităţii GGTP şi LDH în ser, indicelui de hepatoprotecţie (IH) şi coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) sub influenţa preparatelor entomologice în afecţiunea hepatică toxică indusă prin paracetamol**

| Nr. d/o | Grupele | Numărul şobolanilor | LDH U/l | IH % | CAH | GGTP nmol/s-l | IH % | CAH |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Intact | 12 | 2992,5+172,9 | | | 5,19+0,38 | | |
| 2 | Paracetamol 500 mg/kg | 7 | 2894,2±301,0<br>$P_{1-3} > 0,05$ | | | 5,87±0,44<br>$P_{1-3} > 0,05$ | | |
| 3 | Entoheptin (50 mg/100g) 7 zile + paracetamol 500 mg/kg | 10 | 1957,2±73,4<br>$P_{1-2} < 0,05$<br>$P_{2-3} < 0,05$ | 91 | 0,48 | 4,02±0,33<br>$P_{1-2} > 0,05$<br>$P_{2-3} < 0,05$ | 150 | 0,46 |
| 4 | Imuheptin (50mg/100g) 7 zile + paracetamol 500 mg/kg | 10 | 1855,0±145,2<br>$P_{1-4} < 0,05$<br>$P_{2-4} < 0,05$ | 92 | 0,56 | 3,96+0,3<br>$P_{1-4} < 0,05$<br>$P_{2-4} < 0,05$ | 157 | 0,48 |
| 5 | Imupurin (50mg/100g) 7 zile + paracetamol 500 mg/kg | 10 | 2068,2±83,1<br>$P_{1-5} < 0,05$<br>$P_{2-5} < 0,05$ | 89 | 0,4 | 4,51±0,39<br>$P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{2-5} > 0,05$ | 113 | 0,3 |

Tetraclorura de carbon a provocat activarea POL cu majorarea eliberării LDH din hepatocite în ser (Sen A.et al., 2007, Alisi C.S.et al., 2011, Sahreen S.et al., 2011, Чучалин В.С. и др., 2010). Silimarina în aceste condiţii înlătura efectele hepatotoxicului (Alisi C.S.et al., 2011, Sahreen S.et al., 2011).

Pierderile LDH citoplasmatice se consideră ca un indicator al integrităţii şi viabilităţii hepatocitelor. În studiile *in vitro* s-a detectat o creştere a activităţii LDH între 14-48 ore după acţiunea $CCl_4$. Utilizarea antioxidanţilor (tocoferolului, acidului ascorbic, manitolului, aminoguaninei) a redus ieşirea LDH în mediu. În aceste condiţii doar tocoferolul manifesta efecte similare şi faţă de pierderile de transaminaze (Kamel H.H.et al., 2010).

În studiile experimentale *in vitro* şi *in vivo* $CCl_4$ a cauzat majorarea activităţii LDH determinată de producerea $CCl_3^*$ sub acţiunea citocromului P-450. Radicalul agresiv format alchilează proteinele celulare şi alte macromolecule prin atacarea acizilor graşi nesaturaţi cu producerea de peroxizi lipidici ce afectează ficatul. Preparatele antioxidante (silimarina etc.) sau inhibitorii generării radicalilor lipidici au manifestat acţiune protectoare marcată (Raj V.P.et al., 2010).

Paracetamolul, administrat intern la şoricei în doza de 600 mg/kg, a provocat o creştere a activităţii LDH deja peste 4 ore cu menţinerea ei şi la 48 ore. Utilizarea NAC, seleniului şi, îndeosebi, asocierii lor, peste 1-1,5 ore după hepatotoxic, a contribuit la micşorarea activităţii LDH deja peste 8 ore (Yalcin S.et al., 2008).

Tratamentul cu extractul alcoolic din propolis a contribuit la normalizarea activităţii LDH la administrarea internă a dozei de 2g/kg de paracetamol. Efectul protector al preparatului s-a soldat cu restabilirea activităţii sistemului antioxidant (refacerea GSH) şi reducerea celui prooxidant (micşorarea DAM) în ficat datorită compuşilor fenolici pe care îi conţine (Nirala S.K.et al., 2008). Efecte similare s-au depistat şi la utilizarea altor antioxidanţi, precum cvercetina şi taurina, care au anihilat stresul oxidativ indus de hepatotoxic (Yousef M.I.et al., 2010, Das J.et al., 2010).

**Gamaglutamiltranspeptidaza** (GGTP) este o enzimă ce poate servi ca indice al colestazei, precum şi al leziunilor hepatocelulare. Această enzimă catalizează transferul grupărilor glutamil de pe gamaglutamil-peptide pe alte peptide sau aminoacizi, precum şi joacă un rol în transportul aminoacizilor în ciclul gamaglutamil şi catalizează metabolizarea conjugaţilor glutationului-S, substituit al diverselor xenobiotice. Nivelul seric al GGTP este atribuit izoenzimelor hepatice, dar poate fi distribuită şi în membranele diferitor ţesuturi (pancreas, rinichi, splină, inimă, creier etc.). În ficat GGTP este localizată de-a lungul întregului arbore biliar, de la hepatocite până la calea biliară principală, dar se concentrează în principal la nivelul celulelor epiteliale în aceleaşi fragmente membranare care conţin şi fosfataza alcalină. Activitatea enzimei este crescută în afecţiunile hepatice acute în 80-95% cazuri şi corelează cu cel al fosfatazei alcaline, fiind un indicator sensibil şi important pentru diferenţierea originii fosfatazei alcaline (excluderea genezei osoase). Se consideră că activitatea GGTP în afecţiunile acute ale ficatului creşte mai precoce ca cea a transaminazelor, dar este mai mică în apogeul maladiei şi se normalizează mai lent datorită unui turnover de circa 26 zile (activitatea se micşorează cu 50% timp de 10 zile). Majorarea activităţii GGTP poate fi determinată de alcool, maladiile pancreasului, infarctul miocardic, insuficienţa renală, precum şi de utilizarea unor medicamente – fenobarbital, fenitoină, acid valproic, furosemid, heparină etc., dar inhibată de estrogeni (Grigorescu T., 2004, Бабак О.Я., 2006).

La injectarea unimomentană intraperitoneală la animale a dozei toxice de $CCl_4$ s-a constatat creşterea activităţii GGTP de la 5,19±0,38 până la 6,41±0,62 nmol/s-l (P>0,05). Pretratamentul cu preparatele entomologice timp de 7 zile a arătat că imuheptinul preîntâmpina majorarea activităţii GGTP, în timp ce entoheptinul o diminua de la 6,41±0,62 până la 5,65±0,28 nmol/s-l (P>0,05), iar imupurinul de la 6,41±0,62 până la 6,13±0,44 nmol/s-l (P>0,05). Astfel, hepatotoxicul cauza un sindrom minor de colestază care era diminuat de preparatele entomologice, îndeosebi de imuheptin. Determinarea IH şi CAH ne-a relevat că imuheptinul a manifestat cel mai mare grad de protecţie (IH= 66%; CAH=0,34), după care urmează entoheptinul (IH=62%; CAH=0,13) şi imupurinul (IH=23%; CAH=0,04).

Paracetamolul, administrat în doze toxice practic nu provoca un sindrom relevant de colestază, deoarece activitatea GGTP se majora neesenţial (tab.3.1.1.6). Utilizarea entoheptinului a contribuit la diminuarea activităţii GGTP de la 5,87±0,44 până la 4,02±0,33 nmol/s-l (P> 0,05), a imuheptinului - de la 5,87±0,44 până la 3,96±0,3 (P> 0,05), iar a imupurinului - de la 5,87±0,44 până la 4,51±0,39 nmol/s-l (P> 0,05). În aceste condiţii IH a constituit pentru entoheptin 150%, imuheptin – 157% şi imupurin – 113%, iar CAH respectiv 0,46; 0,48 şi 0,3. Astfel, administrarea preventivă timp de o săptămână a preparatelor entomologice a menţinut activitatea enzimei respective sub nivelul animalelor intacte.

Analiza datelor din literatură ne-a relavat că $CCl_4$ deja peste 24 ore produce o creştere a activităţii GGTP (Bhadauria M.et al., 2007, Kang K.S.et al., 2008, Ye X.et al., 2009, Noguiera C.W.et al., 2009, Alqasoumi S., 2010).

Tetraclorura de carbon a provocat o majorare a activităţii GGTP în ser, fapt ce denotă despre dereglarea integrităţii hepatocitelor (Kumarappan C.et al., 2011, Verma N.et al., 2011, Sahreen S.et al., 2011, Alisi C.S.et al., 2011, Саратиков A.C. и др., 2008). Silimarina, datorită proprietăţilor antioxidante şi membranostabilizatoare, menţine integritatea celulară cu normalizarea activităţii GGTP (Verma N.et al., 2011, Alisi C.S.et al., 2011).

Studiile experimentale au demonstrat că paracetamolul, de regulă, provoacă o majorare a activităţii GGTP în plasmă (Rajkapoor B.et al., 2008, Rajesh S.V.et al., 2009, Wilhwlm E.A. et al., 2009). Silimarina şi extractul din *Phyllanthus polyphyllus* (conţine flavonoizi) au diminuat activitatea GGTP în ser la şobolanii cu afecţiune hepatică indusă prin paracetamol datorită efectului membranostabilizator şi antioxidant (Rajkapoor B.et al., 2008).

Rezultatele experimentale obţinute ne-au demonstrat că hepatotoxicele, $CCl_4$ şi paracetamolul, provocau o afecţiune hepatică relevată prin dezvoltarea unui sindrom marcat de citoliză şi a unui uşor de colestază.

Procesele patologice, inclusiv şi cele hepatice, însoţite de afectarea celulelor (prin necroză sau apoptoză) se caracterizează prin creşterea în sânge a nivelului unor peptide cu masă moleculară mică sau medie (PMMM), un parametru ce reflectă gradul de intoxicaţie endogenă. Însă determinarea conţinutului PMMM s-a dovedit a avea un şir de dezavantaje (Gudumac V., Nastas I., 2003; Гаврилов В.Б.и др., 2004). Acestea se referă în primul rând la faptul că printre substanţele MMM se disting circa 200 compuşi care nu pot fi determinaţi prin metoda existentă. În acest context V.Gudumac şi I.Nastas (2003) au propus un procedeu de determinare a „substanţelor necrotice" (SN) ca un criteriu de apreciere a intoxicaţiei endogene şi eficacităţii tratamentului.

La administrarea intraperitoneală a $CCl_4$ la şobolani peste 24 ore s-a constatat o creştere neînsemnată a nivelului PMMM (tab.3.1.1.7), precum şi o majorare mai esenţială a SN (de la 2,21 ± 0,15 până la 2,66 ± 0,32, $P>0,05$). În cazul pretratării animalelor timp de 7 zile cu preparate entomologice s-a constatat că imuheptinul manifesta un efect protector mai marcat prin diminuarea conţinutului SN şi PMMM (tab.3.1.1.7). Imupurinul reducea esenţial nivelul PMMM cu o tendinţă de micşorare a celui al SN. În acelaşi timp entoheptinul practic nu preîntâmpina acţiunea toxică a $CCl_4$ (tab.3.1.1.7). Rezultatele relatate sunt confirmate şi prin analiza IH şi CAH, care în cazul SN a constituit la imuheptin 135% şi 0,3, imupurin 29% şi 0,05 şi la entoheptin 7% şi 0,01.

Datele căpătate denotă dezvoltarea unei intoxicaţii endogene prin acumularea de substanţe peptidice, rezultate din necroza cetrolobulară a ficatului şi perturbările metabolice provocate de hepatotoxic. Este cunoscut faptul că $CCl_4$ provoacă o necroză centrolobulară, zonă unde se constată cea mai înaltă activitate a enzimelor care inactivează xenobioticele (Куценко С.А., 2002).

*Tabelul 3.1.1.7*

**Modificarea sub acţiunea preparatelor entomologice a nivelului substanţelor necrotice şi peptidelor cu masă moleculară medie în ser, indicelui de hepatoprotecţie (IH) şi coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) în afecţiunea hepatică indusă prin tetraclorura de carbon**

| Nr. d/o | Loturile de animale | Numărul şobolanilor | SN U/l | IH % | CAH | PMMM U/l | IH (%) | CAH |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Intact | 12 | 2,21 ± 0,15 | | | 1,12 ± 0,04 | | |
| 2 | $CCl_4$ (0,4 ml/kg ) | 7 | 2,66 ± 0,32<br>$P_{1-2}>0,05$ | | | 1,13 ± 0,03<br>$P_{1-2}>0,05$ | | |
| 3 | Entoheptin (50 mg/100g) 7 zile + $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 10 | 2,63 ± 0,28<br>$P_{1-3}>0,05$<br>$P_{2-3}>0,05$ | 7 | 0,01 | 1,14 ± 0,02<br>$P_{1-3}>0,05$<br>$P_{2-3}>0,05$ | -50 | -0,01 |
| 4 | Imuheptin (50mg/100g) 7 zile + $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 10 | 2,05 ± 0,21<br>$P_{1-4}>0,05$<br>$P_{2-4}<0,05$ | 135 | 0,3 | 1,12 ± 0,07<br>$P_{1-4}>0,05$<br>$P_{2-4}>0,05$ | 0 | 0,01 |
| 5 | Imupurin (0mg/100g) 7 zile + $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 10 | 2,53 ± 0,24<br>$P_{1-5}<0,05$<br>$P_{2-5}>0,05$ | 29 | 0,05 | 1,03 ±0,07<br>$P_{1-5}>0,05$<br>$P_{2-5}>0,05$ | 89 | 0,1 |

La introducerea parenterală a paracetamolului în doze toxice, peste 24 ore s-a depistat o majorare semnificativă a conţinutului SN cu o tendinţă de creştere a celui al PMMM (tab.3.1.1.8). În cazul administrării hepatotoxicului pe fundal de pretratament cu preparatele entomologice s-a relevat că acestea manifestau un efect protector de diferită intensitate. Astfel, imuheptinul diminua marcat nivelul SN şi PMMM, în timp ce imupurinul reducea mai esenţial concentraţia PMMM cu o tendinţă de micşorare a celui a SN (tab.3.1.1.8). Entoheptinul contribuia practic la normalizarea nivelului SN şi ocupa o poziţie intermediară între imuheptin şi imupurin. Indicele de hepatoprotecţie faţă de nivelul SN a constituit pentru entoheptin 96%, imuheptin – 107% şi imupurin – 70% , CAH – 0,33 la entoheptin, 0,45 – la imuheptin şi 0,22 – la imupurin.

Astfel, rezultatele căpătate ne permit să conchidem că preparatele entomologice manifestă un efect protector mai marcat în afecţiunea hepatică indusă prin paracetamol. Imuheptinul s-a dovedit la fel de efectiv şi în leziunea toxică a ficatului cauzată de $CCl_4$. Pretratarea cu preparate entomologice anihila efectele hepatotoxice ale tetraclorurii de carbon şi, îndeosebi, a paracetamolului relevate prin diminuarea nivelului substanţelor necrotice, care ne poate servi ca un criteriu adecvat de apreciere a gradului leziunii hepatice şi eficacităţii preparatelor cu proprietăţi hepatoprotectoare.

*Tabelul 3.1.1.8*

**Modificarea sub acţiunea preparatelor entomologice a nivelului substanţelor necrotice şi peptidelor cu masă molşeculară medie în ser, indicelui de hepatoprotecţie (IH) şi coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) în afecţiunea hepatică indusă prin paracetamol**

| Nr. d/o | Loturile de animale | Numărul şobolanilor | SN un/ml | IH % | CAH | PMMM un/ml | IH % | CAH |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Intact | 12 | 2,21 + 0,15 | | | 1,12 ± 0,04 | | |
| 2 | Paracetamol (500 mg/kg) | 7 | 2,98 ± 0,19<br>$P_{1-2}<0,05$ | | | 1,14 ± 0,06<br>$P_{1-2}>0,05$ | | |
| 3 | Entoheptin (50 mg/100g) 7 zile + paracetamol (500 mg/kg) | 10 | 2,24 + 0,26<br>$P_{1-3}>0,05$<br>$P_{2-3}>0,05$ | 96 | 0,33 | 1,15 ± 0,02<br>$P_{1-3}>0,05$<br>$P_{2-3}>0,05$ | -50 | -0.01 |
| 4 | Imuheptin (50mg/100g) 7 zile + paracetamol (500 mg/kg) | 10 | 2,05 ± 0,14<br>$P_{1-4}>0,05$<br>$P_{2-4}<0,05$ | 107 | 0,45 | 1,02 + 0,03<br>$P_{1-4}>0,05$<br>$P_{2-4}>0,05$ | 80 | 0,12 |
| 5 | Imupurin (50mg/100g) 7 zile + paracetamol (500 mg/kg) | 10 | 2,44 ± 0,27<br>$P_{1-5}>0,05$<br>$P_{2-5}>0,05$ | 70 | 0,22 | 1,02 ±0,04<br>$P_{1-5}>0,05$<br>$P_{2-5}>0.05$ | 80 | 0,12 |

Maladiile hepatice de diferită geneză au constituit una din primele dovezi ale implicării stresului oxidativ în patogeneza diferitor afecţiuni. Studiile experimentale şi clinice au demonstrat implicarea speciilor reactive ale oxigenului (SRO) în dezvoltarea şi evoluţia leziunilor hepatice, cum ar fi cele alcoolice, toxice, medicamentoase sau virale, precum şi din ciroza hepatică şi biliară, bolile colestatice şi cele metabolice, carcinomul hepatic (Dejica D., 2001). Ficatul, datorită rolului esenţial în metabolizarea compuşilor exo- şi endogeni, este expus unui stres oxidativ continuu cu epurarea SRO datorită conţinutului important de antioxidanţi enzimatici şi nonenzimatici.

Un compartiment separat reprezintă studiul influenţei preparatelor cu presupusă acţiune hepatoprotectoare asupra dezvoltării şi evoluţiei stresului oxidativ, care va permite de a elucida starea sistemului pro- şi antioxidant şi direcţiile prioritare de corecţie a acestora. Studiile experimentale au demonstrat că stresul oxidativ în afecţiunile toxice este responsabil de dezvoltarea sindromului citolitic, colestatic şi al intoxicaţiei endogene, precum şi ale dereglărilor metabolice şi morfologice (Login C., 2009; Noguiera C.W. et al., 2009, Lee M.K. et al., 2009; Cemek M. et al., 2010, Uzma N.et al., 2010).

Stresul oxidativ reprezintă un dezechilibru dintre producerea speciilor reactive ale oxigenului, azotului şi lipidelor (SRO, SRN, SRL) şi protecţia antioxidantă. Acesta constituie o reacţie patologică tipică organismului în diferite patologii. Speciile reactive ale oxigenului iclud: anionul superoxid ($O_2^{\bullet}$), radicalul hidroxil ($OH^{\bullet}$), precum şi derivaţii neradicalici: peroxidul de hidrogen ($H_2O_2$), hipocloritul (ClO*), ozonul ($O_3$) şi oxigenul singlet ($^1O_2$). Din speciile reactive ale azotului fac parte monoxidul de azot (NO*) şi peroxinitritul (ONOO*), iar din cele ale lipidelor – hidroperoxizii acizilor graşi nesaturaţi (LOOH) şi radicalii ce participă în procesele POL – radicalii alchilici (L*), aloxilici (LO*) şi dioxidici (LOO*) (Заласский В.Н., Дынник О.Б., 2006).

La modelarea afecţiunii hepatice prin $CCl_4$ s-a constatat o tendinţă de micşorare a conţinutului hidroperoxizilor iniţiali (HLPi) şi hidroperoxizilor intermediari (HLPm) (tab.3.1.1.9) cu o creştere nesemnificativă a hidroperoxizilor finali (HLPf) (tab.3.1.1.10). La administrarea hepatotoxicului la animalele pretratate timp de 7 zile cu entoheptin în doza de 50 mg/100g s-a depistat o diminuare semnificativă a nivelului hidroperoxizilor. Astfel, la şobolanii trataţi cu entoheptin, în comparaţie cu lotul control ($CCl_4$ 0,4 ml/kg), concentraţia HLPi s-a redus de la 0,68 ± 0,07 până la 0,29 ± 0,05, cea a HLPm de la 0,61 ± 0,07 până la 0,3 ± 0,03 şi cea a HLPf de la 0,26 ± 0,02 până la 0,15 ± 0,02 ($P < 0,05$). Efect similar asupra nivelului hidroperoxizilor în leziunea toxică a ficatului indusă prin $CCl_4$ s-a relevat şi la pretratarea animalelor timp de 7 zile cu imuheptin. Imupurinul în aceste condiţii nu modifica esenţial efectele hepatotoxicului. Cele relatate sunt în concordanţă cu IH şi CAH (tab.3.1.1.9 şi 3.1.1.10).

*Tabelul 3.1.1.9*

**Modificarea conţinutului hidroperoxizilor iniţiali şi intermediari (HLPi, HLPm) în ficat, indicelui de hepatoprotecţie (IH) şi coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) în afecţiunea hepatică toxică indusă prin tetraclorura de carbon**

| Nr. d/o | Grupele | Numărul şobolanilor | HLPi U/l | IH % | CAH | HLPm U/l | IH % | CAH |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Intact | 12 | 0,71+ 0,04 | | | 0,68 + 0,04 | | |
| 2 | $CCl_4$ (0,4 ml/kg ) | 7 | 0,68 ± 0,07<br>$P_{1-2} > 0,05$ | | | 0,61 ± 0,07<br>$P_{1-2} > 0,05$ | | |
| 3 | Entoheptin (50 mg/100g) 7 zile + $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 9 | 0,29 ± 0,05<br>$P_{1-3} < 0,001$<br>$P_{2-3} < 0,001$ | 93 | 1,34 | 0,3 ± 0,03<br>$P_{1-3} < 0,001$<br>$P_{2-3} < 0,05$ | 82 | 1,03 |
| 4 | Imuheptin (50mg/100g) 7 zile + $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 10 | 0,31 ± 0,04<br>$P_{1-4} < 0,001$<br>$P_{2-4} < 0,001$ | 92 | 1,19 | 0,35 ± 0,03<br>$P_{1-4} < 0,05$<br>$P_{2-4} < 0,05$ | 80 | 0,74 |
| 5 | Imupurin (50mg/100g) 7 zile + $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 10 | 0,63 ± 0,05<br>$P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{2-5} > 0,05$ | 63 | 0,08 | 0,67 ± 0,05<br>$P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{2-5} > 0,05$ | -14 | -0,09 |

Tetraclorura de carbon sub acţiunea citocromului P-450 în reticulul endoplasmatic formează $CCl_3^{\bullet}$, care se cuplează covalent cu acizii graşi nesaturaţi (substituie $H^+$) din lipidele membranare cu generarea cloroformului şi radicalilor lipidici. Ultimii iniţiază o reacţie în lanţ a POL în interiorul şi exteriorul membranelor hepatocitelor cu afectarea ficatului (Kamalakkannan N.et al., 2005, Adeneye A.A., 2009, Jing-Yxing Xu et al., 2010, Alisi C.S.et al., 2011). Triclormetilul poate reacţiona şi cu alte molecule biologice precum aminoacizii, acizii nucleici. Concomitent, $CCl_3^{\bullet}$ în prezenţa oxigenului formează $CCl_3OO^{\bullet}$ care este mai reactiv şi capabil să accepte $H^+$ de la acizii graşi nesaturaţi şi de a iniţia POL (Hassan H.A., El-Gendy A.M., 2003, Kamalakkannan N.et al., 2005, Alisi C.S.et al., 2011). Autorii au menţionat că $CCl_4$ la şobolani creşte conţinutul hidroperoxizilor în plasmă şi ficat cu diminuarea nivelului antioxidanţilor (GSH, tocoferolii, acidul ascorbic) şi activităţii enzimelor antioxidante în ficat (SOD, catalaza, GRx, GST). În aceste condiţii NAC manifestă efect protector datorită reacţionării prin intermediul SH-grupelor cu compuşii electrofili ai lipidelor, precum hidroperoxizii. Concomitent, NAC restabileşte nivelul GSH cu reciclarea antioxidanţilor non-enzimatici (tocoferol, acid ascorbic) şi intensificarea activităţii enzimelor antioxidante. Aceste efecte sunt responsabile de acţiunea membranostabilizatoare cu menţinerea integrităţii membranelor şi preîntâmpinarea ieşirii enzimelor (AsAT, AlAT, FAl, GGT etc.) (Kamalakkannan N.et al., 2005, Jing-Ying Xu et al., 2010, Alisi C.S.et al., 2011).

*Tabelul 3.1.1.10*

**Modificarea conţinutului hidroperoxizilor finali (HLPf) în ficat, indicelui de hepatoprotecţie (IH) şi coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) în afecţiunea hepatică toxică indusă prin tetraclorura de carbon**

| Nr. d/o | Grupele | Numărul şobolanilor | HLPf U/l | IH % | C A H |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Intact | 12 | 0,21 ± 0,02 | | |
| 2 | $CCl_4$ (0,4 ml/kg ) | 7 | 0,26 ± 0,02<br>$P_{1-2} > 0,05$ | | |
| 3 | Entoheptin (50 mg/100g) 7 zile + $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 9 | 0,15 ± 0,02<br>$P_{1-3} > 0,05$<br>$P_{2-3} < 0,05$ | 220 | 0,73 |
| 4 | Imuheptin (50mg/100g) 7 zile + $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 10 | 0,17 ± 0,02<br>$P_{1-4} > 0,05$<br>$P_{2-4} < 0,05$ | 180 | 0,53 |
| 5 | Imupurin (50mg/100g) 7 zile + $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 10 | 0,25 ± 0,03<br>$P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{2-5} > 0,05$ | 80 | 0,04 |

La administrarea unei doze unice de $CCl_4$ de 1ml/kg s-a depistat o majorare a nivelului hidroperoxizilor în sânge, însoţită de o depleţie a GSH în ficat şi rinichi pe fundalul majorării concentraţiei în aceste organe a DAM. Hepatotoxicul, prin formarea radicalului agresiv, atacă acizii graşi nesaturaţi cu generarea speciilor reactive ale oxigenului şi declanşarea stresului oxidativ, care contribuie la iepuizarea GSH, captator al radicalilor liberi în celulă (Bashandy S.A., AlWesel S.H., 2011).

La administrarea dozei toxice de paracetamol (500 mg/kg) s-a depistat o tendinţă de micşorare a HLPi şi de majorarea a HLPm şi HPLf (tab.3.1.1.11 şi 3.1.1.12). La utilizarea preventivă a entoheptinului timp de 7 zile s-a constatat o diminuare mai accentuată a HLPi cu o inversare a efectului hepatotoxicului faţă de HLPm şi HLPf (tab.3.1.1.11). Imuheptinul în aceste condiţii a contribuit la o reducere semnificativă a HLPi de la 0,65 ± 0,15 până la 0,31 ± 0,04, a HLPm de la 0,72±0,2 până la 0,39±0,05 şi a HLPf de la 0,24±0,04 până la 0,16±0,02 ($P < 0,05$). Imupurinul, utilizat timp de 7 zile nu a modificat caracterul influenţei paracetamolului asupra nivelului hidroperoxizilor. Efectele entoheptinului şi, îndeosebi, a imuheptinului asupra nivelului hidroperoxizilor sunt exprmate prin IH şi CAH (tab.3.1.1.11 şi 3.1.1.12).

Studiile recente au demonstrat că la metabolizarea $CCl_4$ prin citocromul P-450 se formează $CCl_3^*$ şi radicalii lipoperoxidici ($LO^*$ şi $LOO^*$), care atacă lipidele membranare ale reticulului endoplasmatic cu majorarea DAM, indicator al POL, şi micşorarea GSH. Taurina, un captator al radicalilor liberi *in vitro* şi *in vivo*, şi silimarina au redus producerea DAM în ficat (Xiao-Wen Li et al., 2010, Raj V.P.et al., 2010, Allman M.et al., 2010, Sahreen S.et al., 2011, Смольякова В.И. и др., 2010). Antioxidanţii (silimarina, preparatele vegetale etc.) manifestă efect protector în afecţiunea hepatică indusă prin $CCl_4$ prin captarea radicalilor liberi (speciilor reactive ale oxigenului şi lipidelor), diminuarea POL şi restabilirea conţinutului GSH şi activităţii enzimelor antioxidante ( Raj N.Pet al., 2010, Tien Y.C.et al., 2011, Verma N.et al., 2011, Sahreen S. et al., 2011, Смольякова В.И. и др., 2010).

Tetraclorura de carbon, prin formarea $CCl_3^{\bullet}$ şi $CCl_3OO^{\bullet}$, atacă acizii graşi nesaturaţi, în particular asociaţi cu fosfolipidele, cu iniţierea POL şi dereglarea permeabilităţii membranei citoplasmatice, mitocondriale şi reticulului endoplasmatic cu micşorarea sechestrării calciului şi perturbarea homeostazei acestuia ceea ce contribuie la lezarea subsecventă a celulei. Printre produsele de degradare a acizilor geaşi nesaturaţi sunt aldehidele reactive, în special 4-hidroxinonena, care se cuplează uşor cu grupele funcţionale ale proteinelor şi inhibă activitatea unor enzime importante (Tarantino G. et al., 2009).

În culturile de hepatocite s-a constatat că $CCl_4$ a generat producerea radicalilor liberi şi speciilor reactive ale oxigenului deja peste 2 ore cu un maxim la 4 ore şi o descreştere peste 6 ore. În acelaşi timp, concentraţia produselor ce reacţionează cu acidul tiobarbituric era crescută deja peste 0,5-1 oră şi continua să se majoreze până la 14 ore. Supraproducţia de radicali liberi poate leza direct membranele celulare sau prin iniţierea unor cascade de efecte celulare, precum eliberarea masivă a mediatorilor inflamaţiei sau a citochinelor, responsabile ulterior de leziunea ficatului (Kamel H.H.et al., 2010). În aceste condiţii e necesar de a depista compuşii naturali cu proprietăţi antioxidante, capabili de a inhiba formarea sau de a capta radicalii liberi, precum şi de a se concentra aproape de ţintele critice în celulă (Kamel H.H.et al., 2010).

*Tabelul 3.1.1.11*

**Modificarea conţinutului hidroperoxizilor iniţiali şi intermediari (HLPi, HLPm) în ficat, indicelui de hepatoprotecţie (IH) şi coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) în afecţiunea hepatică toxică indusă prin paracetamol**

| Nr. d/o | Grupele | Numărul şobolanilor | HLPi | IH % | CAH | HLPm | IH % | CAH |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Intact | 12 | 0,71± 0,04 | | | 0,68 ± 0,04 | | |
| 2 | Paracetamol (500 mg/kg) | 7 | 0,65 ± 0,15<br>$P_{1-2} > 0,05$ | | | 0,72 ± 0,2<br>$P_{1-2} > 0,05$ | | |
| 3 | Entoheptin (50 mg/100g) 7 zile + paracetamol (500 mg/kg) | 10 | 0,53 ± 0,07<br>$P_{1-3} < 0,05$<br>$P_{2-3} < 0,05$ | 67 | 0,23 | 0,57 ± 0,09<br>$P_{1-3} > 0,05$<br>$P_{2-3} > 0,05$ | 64 | 0,26 |
| 4 | Imuheptin (50mg/100g) 7 zile + paraceta-mol (500 mg/kg) | 10 | 0,31 + 0,04<br>$P_{1-4} < 0,001$<br>$P_{2-4} < 0,05$ | 85 | 1,1 | 0,39 + 0,05<br>$P_{1-4} < 0,05$<br>$P_{2-4} > 0,05$ | 86 | 0,85 |
| 5 | Imupurin (50mg/100g) 7 zile + paraceta-mol (500 mg/kg) | 10 | 0,65 ± 0,06<br>$P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{2-5} > 0,05$ | 0 | 0 | 0,68 ± 0,07<br>$P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{2-5} > 0,05$ | 6 | 0,06 |

*Tabelul 3.1.1.12*

**Modificarea conţinutului hidroperoxizilor finali (HLPf) în ficat, indicelui de hepatoprotecţie (IH) şi coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) în afecţiunea hepatică toxică indusă prin paracetamol**

| Nr. d/o | Grupele | Numărul şobolanilor | HLPf | IH % | CAH |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Intact | 12 | 0,21 ± 0,02 | | |
| 2 | Paracetamol<br>(500 mg/kg) | 7 | 0,24 ± 0,04<br>$P_{1-2} > 0,05$ | | |
| 3 | Entoheptin (50 mg/100g)<br>7 zile + paracetamol<br>(500 mg/kg) | 10 | 0,21 ± 0,03<br>$P_{1-3} > 0,05$<br>$P_{2-3} > 0,05$ | 100 | 0,14 |
| 4 | Imuheptin (50mg/100g)<br>7 zile + paracetamol<br>(500 mg/kg) | 10 | 0,16 ± 0,02<br>$P_{1-4} > 0,05$<br>$P_{2-4} > 0,05$ | 266 | 0,5 |
| 5 | Imupurin (50mg/100g)<br>7 zile + paracetamol<br>(500 mg/kg) | 10 | 0,24 ± 0,03<br>$P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{2-5} > 0,05$ | 0 | 0 |

Tetraclorura de carbon, în doza de 0,5 ml/kg intraperitoneal, induce stresul oxidativ în ficat relevat prin creşterea nivelului hidroperoxizilor (LOOH) şi DAM în asociere cu supresia potenţialului sistemului antioxidant (SOD, GPx, GSH) (Zeashan H.et al., 2008, Sindhu E.R.et al., 2010, Quan J.et al., 2011, Firdous A.P.et al., 2011).

Extractul hidric din propolis a manifestat efect protector faţă de hepatocitele izolate de acţiunea hepatotoxică a $CCl_4$, relevată prin micşorarea generării peroxizilor lipidici şi menţinerea nivelului GSH în celulă (El-Khatib A.S.et al., 2002).

Administrarea paracetamolului în doză unică de 500 mg/kg intraperitoneal la şoricei a contribuit la majorarea nivelului peroxizilor lipidici în ficat, însoţită de o creştere a activităţii AlAT, diminuare a conţinutului GSH şi ATP-ului. În aceste condiţii, pretratamentul cu timochinon a preîntâmpinat efectele analgezicului prin creşterea rezistenţei la stresul oxidativ şi nitrozactiv cu intensificarea producerii de energie de către mitocondrii (Nagi M.N.et al., 2010).

Cercetarea stresului oxidativ (a nivelului hidrperoxizilor, produselor peroxidării lipidice şi a conţinutului antioxidanţilor) prezintă interes în evoluţia maladiilor şi stărilor patologice. Pentru a caracteriza rolul heterogen al diferitor clase de antioxidanţi se foloseşte o noţiune integrală nespecifică – activitatea antioxidantă totală (AAT). Aceasta permite a aprecia o componentă integrală ce caracterizează potenţialul posibil al acţiunii antioxidante a componenţilor lichidului biologic nu separat, ci interacţionând între ele în sistemul biologic compus, luând în considerare sinergismul cooperativ al acţiunii lor antioxidante şi implicaţiile antioxidanţilor necunoscuţi, rar întâlniţi sau cu efect minor (Беляков Н.А., Семесько С.Г., 2005). Activitatea antioxidantă totală presupune nu determinarea uneia sau mai multor substanţe, ci a activităţii antioxidante funcţionale, ce poate fi remodelată în sistemul convenabil unde au loc reacţiile oxidative. Orice metodă de determinare a AAT în lichidele biologice se bazează pe utilizarea sistemului ce constă minim din 2 componente: generatorul de radicali liberi şi detectorul lor. Introducerea în sistem a captatorului radicalilor liberi sau substanţelor ce influenţează concentraţia sau starea catalizatorului va produce micşorarea radicalilor liberi, ceea ce se va răsfrânge asupra detectorului lor. Astfel, AAT se determină după capacitatea de a inhiba formarea radicalilor liberi. În aceasta constă sensul analizei inhibitoare, iar principiul ei de bază – concurenţa dintre antioxidantul lichidului biologic şi indicatorul pentru oxidator sau mai precis radicalul liber.

Activitatea antioxidantă totală este nu pur şi simplu suma activităţii diferitor antioxidanţi, ci un parametru ce se modifică dinamic, determinat de interacţiunea dintre fiecare component. Efectul cooperativ al antioxidanţilor asigură o protecţie mai mare la atacurile radicalilor liberi decât fiecare component în parte (Беляков Н.А., Семесько С.Г., 2005).

Cercetarea AAT a lichidului biologic are semnificaţie clinică (diagnostică şi prognostică). O importanţă mai mare au nu valorile absolute ale AAT, ci dinamica lor pe durata procesului patologic. AAT nu manifestă nici specificitate antioxidantă, nici nozologică, dar poate fi unul din criteriile efective de control a evoluţiei maladiei, în dezvoltarea căreia un rol primordial revine proceselor POL, precum şi de selectare individuală a terapiei medicamentoase şi apreciere a eficacităţii tratamentului în practica medicală.

La administrarea $CCl_4$ în doza unică de 0,4 ml/kg nu s-au constatat devieri semnificative în nivelul AAT (tab.3.1.1.13). La injectarea hepatotoxicului după utilizarea preventivă a entoheptinului în doza de 50 mg/100g timp de 7 zile s-a relevat o majorare a AAT faţă de lotul intact ( de la 44,74 ± 1,92 până la 53,59 ± 1,79 $P <$ 0,05 ) şi cel cu $CCl_4$ ( de la 45,74 ± 3,68 până la 53,59 ± 1,79 $P>$ 0,05). În condiţii similare imuheptinul şi imupurinul practic nu influenţau nivelul AAT la şobolani după administrarea dozelor toxice de $CCl_4$, date confirmate prin modificări nesemnificative ale CAH (tab. 3.1.1.13.).

Hepatita toxică acută, indusă prin $CCl_4$ a cauzat reducerea cu 40% a AAT pe fundalul creşterii POL (majorarea dienelor conjugate (DC), DAM şi bazelor Shiff). Silimarina în aceste condiţii a crescut AAT şi a diminuat intensitatea POL, fără ale normaliza (Кропотов А.В. и др.2004).

În afecţiunea hepatică indusă prin $CCl_4$ s-a constatat reducerea AAT cauzată de intensificarea POL (creşterea DC şi DAM în plasmă şi ficat, micşorarea nivelului GSH şi SH-grupelor în ficat ) prin formarea unui şir de radicali liberi, responsabili de dereglarea permeabilităţii membranare, disfuncţia mitocondriilor şi necroza hepatocitelor (Хотимченко М.Ю., Сонина Л.Н., 2006, Доркина Е.Г., 2010).

În cazul modelării afecţiunii heptice toxice prin paracetamol s-a constatat o diminuare a nivelului AAT de la 44,74 ± 1,92 în lotul intact până la 38,51 ± 2,69 ($P>$ 0,05). Entoheptinul şi imuheptinul, la administrarea preventivă timp de 7 zile, au contribuit la anihilarea efectului prooxidant al hepatotoxicului relevat prin normalizarea AAT, date susţinute şi prin IH şi CAH (tab.3.1.1.14). Imupurinul în aceste condiţii nu a modificat efectul hepatotoxic al analgezicului antipiretic, nivelul AAT fiind similar cu cel depistat la animalele pretratate cu paracetamol (tab.3.1.1.14).

Astfel, rezultatele obţinute denotă că entoheptinul restabileşte nivelul AAT în cazul administrării dozelor toxice de paracetamol şi îl majorează la urilizarea $CCl_4$. În acelaşi timp, imuheptinul nu influenţează AAT la acţiunea hepatotoxică a $CCl_4$ şi preîntâmpină diminuarea ei în cazul paracetamolului. Imupurinul practic nu modifică acţiunea ambelor hepatotoxice asupra AAT.

*Tabelul 3.1.1.13*

**Modificarea activităţii antioxidante totale (AAT) în ser, indicelui de hepatoprotecţie (IH) şi coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) în afecţiunea hepatică toxică indusă prin tetraclorura de carbon**

| Nr. d/o | Grupele | Numărul şobolanilor | AAT % | IH % | CAH |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Intact | 12 | 44,74 ± 1,92 | | |
| 2 | $CCl_4$ (0,4 ml/kg ) | 7 | 45,74 ± 3,68<br>$P_{1-2} > 0,05$ | | |
| 3 | Entoheptin (50 mg/100g) 7 zile + $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 9 | 53,59 ± 1,79<br>$P_{1-3} < 0,05$<br>$P_{2-3} > 0,05$ | 89 | 0,17 |
| 4 | Imuheptin (50mg/100g) 7 zile + $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 10 | 44,79 ± 1,76<br>$P_{1-4} > 0,05$<br>$P_{2-4} > 0,05$ | 99 | -0,02 |
| 5 | Imupurin (50mg/100g) 7 zile + $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 10 | 42,54 ± 3,07<br>$P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{2-5} > 0,05$ | -55 | -0,05 |

*Tabelul 3.1.1.14*

**Modificarea activităţii antioxidante totale (AAT) în ser, indicelui de hepatoprotecţie (IH) şi coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) în afecţiunea hepatică toxică indusă prin paracetamol**

| Nr. d/o | Grupele | Numărul şobolanilor | AAT % | IH % | CAH |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Intact | 12 | 44,74 ± 1,92 | | |
| 2 | Paracetamol (500 mg/kg) | 7 | 38,51 ± 2,69<br>$P_{1-2} > 0,05$ | | |
| 3 | Entoheptin (50 mg/100g) 7 zile + paracetamol (500 mg/kg) | 10 | 45,44 ± 2,73<br>$P_{1-3} > 0,05$<br>$P_{2-3} > 0,05$ | 89 | 0,18 |
| 4 | Imuheptin (50mg/100g) 7 zile + paracetamol (500 mg/kg) | 10 | 47,1 + 3,72<br>$P_{1-4} > 0,05$<br>$P_{2-4} > 0,05$ | 62 | 0,22 |
| 5 | Imupurin (50mg/100g) 7 zile + paracetamol (500 mg/kg) | 10 | 37,19 ± 1,82<br>$P_{1-5} < 0,05$<br>$P_{2-5} > 0,05$ | -21 | -0,03 |

Ceruloplasmina reprezintă o proteină plasmatică cu proprietăţi antioxidante, care se sintetizează în ficat şi în alte organe (limfocite, pulmoni, creier, uter etc.) (Логинов А.С. и др.., 1998). Ceruloplasmina transformă formele toxice ale fierului ($Fe^{2+}$) în cele netoxice ($Fe^{3+}$), inhibă generarea radicalilor hidroxil ($OH^{*}$), reacţionează cu superoxidul ($O_2^{*}$) şi peroxidul de hidrogen ($H_2O_2$), inhibă lipoperoxidaza dependentă de fier şi, astfel, împiedică peroxidarea acizilor graşi nesaturaţi şi inactivarea enzimelor ce conţin grupe tiolice (SH) [Костюченко А.Л., и др.., 2002]. În acelaşi timp, ceruloplasmina se consideră un indicator al capacităţii de inhibiţie a proceselor POL, care se intensifică şi stau la baza patogenezei maladiilor şi stărilor patologice. Afecţiunile hepatice, inclusiv cele toxice, se caracterizează prin activarea proceselor de formare a radicalilor liberi şi POL cu acumulare de produse intermediare şi finale (dialdehida malonică, conjugaţii dienici, bazele Shiff etc.), cu dereglarea funcţiilor şi stabilităţii hepatocitelor [Kaur G et al., 2006, Chandan B.K et al., 2007, Lee K.J. et al., 2007, Wu Z.M. et alş., 2007, Венгеровский А.И. и др., 2000, Гутникова А.Р. . и др., 2003]. Una din verigile patogenetice, în aceste cazuri, reprezintă dezvoltarea endotoxemiei, ce iniţiază sau susţine procesele POL.

La injectarea dozelor toxice de $CCl_4$ s-a constatat o micşorare a nivelului ceruloplasminei în ser de la 108,7 ± 9,2 până la 99,5 ± 7,0 ($P>0,05$). La administrarea preventivă timp de 7 zile a preparatelor entomologice conţinutul ceruloplasminei în ser era mai mic decât la animalele intacte şi cele din lotul cu afecţiune hepatică, fapt relevat şi prin valorile negative ale CAH (tab.3.1.1.15).

Vuda M şi coaut. (2011) au relatat că la administrarea $CCl_4$ în doza de 1ml/kg intraperitoneal are loc micşorarea nivelului ceruloplasminei în ser.

Paracetamolul, administrat în doze de 500 mg/kg, a contribuit la majorarea neesenţială a conţinutului ceruloplasminei în ser de la 108,7 ± 9,2 până la 119,1 ± 19,6 mg/l ($P>0,05$). Date similare au raportat Lapteva E.N. şi coaut. (2007), care au depistat majorarea de 2 ori a nivelului ceruloplasminei la administrarea fenacetinei în doze de 400 mg/kg timp de 4 zile. Utilizarea timp de o săptămână a entoheptinului a determinat o creştere nesemnificativă a nivelului proteinei respective în ser atât faţă de lotul intact, cât şi cel de control (tab.3.1.116). Imuheptinul şi imupurinul în aceste condiţii au micşorat neesenţial concentraţia ceruloplasminei în ser, manifestată şi prin valorile negative ale CAH.

Peptidele histidinice – carnozina (beta-alanil-L-histidina), homocarnozina, anserina, homoanserina, carcinina, ofidina etc. –, reprezintă nişte oligopeptide endogene cu proprietăţi antioxidante, antiglicozilante şi de buffer, de asemenea participă într-un şir de procese metabolice. Proprietăţile antioxidante ale carnozinei se realizează la diferite stadii ale stresului oxidativ (de la neutralizarea speciilor reactive ale oxigenului până la interacţiunea cu produsele moleculare ale reacţiilor radicalice) şi se reduc la: captarea radicalilor liberi (hidroxil ($OH^*$), peroxil ($HO_2^*$), superoxid ($O_2^*$), singler ($O_2^1$), hipoclorit ($OCl^*$) şi mai slab a peroxidului de hidrogen); micşorarea hidroperoxizilor lipidici în ser, formaţi sub acţiunea $Fe^{2+}$; interacţiunea cu produsele moleculare primare ale POL; creşterea activităţii antioxidanţilor liposolubili (tocoferolului); manifestarea activităţii superoxiddismutazice (în prezenţa ionior de cupru şi zinc); chelatarea metalelor bivalente (Cu, Co, Zn, Mn, Fe); reglarea activităţii enzimelor ce participă la formarea radicalilor liberi (inhibă tirozinhidroxilaza, mieloperoxidaza); modularea activităţii leucocitelor (la concentraţii mici micşorează, iar la mari creşte producerea de specii reactive ale oxigenului). Concomitent, carnozina manifestă un şir de acţiuni: stabilizarea membranei celulare (protecţia lipidelor de oxidare şi păstrarea funcţiilor lor); protejarea structurilor membranare ale mitocondriilor, reticulului endoplasmatic etc.(prin acţiunea antioxidantă şi creşterea rezistenţei la factorii nocivi); protejarea unor enzime membranare şi metabolice (dehidrogenaze, fosforilaza, ATP-aze, pompe ionice etc.); preîntâmpinarea proceselor de glicozilare a histonelor ficatului; reglarea activităţii lipooxigenazei; imunomodulatoare şi antiinflamatoare (datorită efectului antioxidant, membranostabilizator şi proprietăţilor de buffer) (Yan S.L.et al., 2009, Fouad A.A.et al., 2009, Aydin A.F.et al., 2010, Artun B.C.et al., 2010, Boldîrev A.A.et al., 2010, Болдырев А.А., 1998, Болдырев А.А. и др., 2000, Тюлина О.В.и др., 2002, Волков О.А., 2005, Болдырева Ю.В., 2010).

*Tabelul 3.1.1.15*

**Modificarea conţinutului ceruloplasminei şi carnozinei în ser, indicelui de hepatoprotecţie (IH) şi coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) în afecţiunea hepatică toxică indusă prin tetraclorura de carbon**

| Nr. d/o | Grupele | Numărul şobolanilor | Ceruloplasmina mg/l | IH % | CAH | Carnozina µmol/l | IH % | CAH |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Intact | 12 | 108,7 + 9,2 | | | 445,5 + 24,1 | | |
| 2 | $CCl_4$ (0,4 ml/kg ) | 7 | 99,5 + 7,0<br>$P_{1-2} > 0,05$ | | | 410,8 ± 32,0<br>$P_{1-2} > 0,05$ | | |
| 3 | Entoheptin (50 mg/100g) 7 zile + $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 9 | 92,5 + 9,6<br>$P_{1-3} > 0,05$<br>$P_{2-3} > 0,05$ | 43 | -0,07 | 380,8 ± 19,6<br>$P_{1-3} > 0,05$<br>$P_{2-3} > 0,05$ | -46 | -0,07 |
| 4 | Imuheptin (50mg/100g) 7 zile + $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 10 | 88,0 ± 7,4<br>$P_{1-4} > 0,05$<br>$P_{2-4} > 0,05$ | 56 | -0,12 | 435,6 + 11,2<br>$P_{1-4} > 0,05$<br>$P_{2-4} > 0,05$ | 72 | 0,06 |
| 5 | Imupurin (50mg/100g) 7 zile + $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 10 | 88,5 ± 5,2<br>$P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{2-5} > 0,05$ | 55 | -0,11 | 447,7 ± 20,8<br>$P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{2-5} > 0,05$ | 106 | 0,09 |

Studiul concentraţiei carnozinei în ser a arătat o micşorare nesemnificativă a acesteia la administrarea dozelor toxice de $CCl_4$ (tab.3.1.1.15). Entoheptinul la utilizarea timp de 7 zile nu a preîntâmpinat diminuarea nivelului carnozinei induse de hepatotoxic. În condiţii similare imuheptinul şi imupurinul au contribuit la menţinerea conţinutului carnozinei la nivelul animalelor intacte (tab.3.1.1.15).

Administrarea dozelor toxice de paracetamol a determinat o creştere neesenţială a nivelului carnozinei în ser de la 445,5 ± 24,1 până la 460,3 ± 10,8 µmol/l

($P>0,05$). Entoheptinul şi imupurinul au anihilat efectul respectiv al analgezicului antipiretic, diminuând conţinutul carnozinei de la 460,3 ± 10,8 până la 390,2 ± 20,1 şi 398,0 ± 16,3 µmol/l ($P>0,05$) respectiv. În acelaşi timp folosirea imupurinului nu a influenţat efectul paracetamolului asupra concentraţiei carnozinei în ser.

Administrarea paracetamolului la şoricei în doza de 350 mg/kg (i/p) a determinat dezvoltarea afecţiunii hepatice prin inducerea stresului oxidativ relevat prin micşorarea în ficat a nivelului GSH şi acidului ascorbic şi activităţii GPx, SOD, catalazei, cu creşterea concomitentă a conţinutului DAM, speciilor reactive ale oxigenului, glutationului oxidat (GSSG). Pretratamentul cu carnozină sau histidină a diminuat semnificativ manifestările stresului oxidativ (Yan S.L.et al., 2009). Autorii au determinat concomitent şi o micşorare a inducerii CYP 2E1 cauzată de paracetamol, fapt ce a permis de a conchide că carnozina şi histidina manifestă efect hepatoprotector. Acţiune similară a fost observată şi în afecţiunea ficatului produsă de alcool şi cadmiu clorură, situaţii în care, de rând cu anihilarea stresului oxidativ, s-a diminuat activitatea transaminazelor (Fouad A.A.et al., 2009, Artun B.C.et al., 2009).

*Tabelul 3.1.1.16*

**Modificarea conţinutului ceruloplasminei şi carnozinei în ser, indicelui de hepatoprotecţie (IH) şi coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) în afecţiunea hepatică toxică indusă prin paracetamol**

| Nr. d/o | Grupele | Numărul şobolanilor | Ceruloplasmina mg/l | IH % | CAH | Carnozina µmol/l | IH % | CAH |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Intact | 12 | 108,7 + 9,2 | | | 445,5 + 24,1 | | |
| 2 | Paracetamol (500 mg/kg) | 7 | 119,2 + 19,6<br>$P_{1-2} > 0,05$ | | | 460,3 ± 10,8<br>$P_{1-2} > 0,05$ | | |
| 3 | Entoheptin (50 mg/100g) 7 zile + paracetamol (500 mg/kg) | 10 | 136,7 ± 19,1<br>$P_{1-3} > 0,05$<br>$P_{2-3} > 0,05$ | 60 | 0,15 | 390,2 + 20,1<br>$P_{1-3} > 0,05$<br>$P_{2-3} > 0,05$ | 73 | -0,15 |
| 4 | Imuheptin (50mg/100g) 7 zile + paracetamol (500 mg/kg) | 10 | 99,0 ± 5,8<br>$P_{1-4} > 0,05$<br>$P_{2-4} > 0,05$ | 8 | -0,17 | 398,0 ± 16,3<br>$P_{1-4} > 0,05$<br>$P_{2-4} > 0,05$ | 69 | -0,16 |
| 5 | Imupurin (50mg/100g) 7 zile + paracetamol (500 mg/kg) | 10 | 85,9 ± 5,1<br>$P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{2-5} > 0,05$ | 54 | -0,28 | 459,9 ± 12,4<br>$P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{2-5} > 0,05$ | 2 | 0 |

Rezultatele relatate permit să conchidem că entoheptinul şi imuheptinul preîntâmpină efectele negative ale hepatotoxicelor asupra nivelului AAT şi hidroperoxizilor, în timp ce imupurinul practic nu influenţează aceste acţiuni ale $CCl_4$ şi paracetamolului. În aceste condiţii imuheptinul anihilează acţiunea prooxidantă a $CCl_4$ şi paracetamolului, în timp ce entoheptinul mai efectiv cea a tetraclorurii. E necesar de remarcat că entoheptinul, în cazul afecţiunii toxice induse de $CCl_4$ creşte atât nivelul AAT, cât şi reduce intensitatea formării hidroperoxizilor, iar în leziunea produsă de paracetamol influenţele sunt mai puţin relevante. Imuheptinul în ambele cazuri de hepatotoxicitate modifică mai esenţial nivelul hidroperoxizilor, iar AAT este benefic influenţată în hepatita toxică indusă de analgezic. Astfel, preparatele entomologice, entoheptin şi imuheptin, manifestă proprietăţi antioxidante în afecţiunile toxice ale ficatului relevate prin menţinerea potenţialului antioxidant şi preîntâmpinarea proceselor peroxidării lipidelor.

În cadrul afecţiunilor induse prin hepatotoxice se pot constata un şir de dereglări ale metabolismului glucidic, proteic şi lipidic cu diminuarea aportului de substraturi energetice importante (glucoza), precum şi prin formarea unor metaboliţi intermediari (lactat, amoniac etc.) ce reflectă funcţia metabolică şi sintetică a ficatului. Reieşind din acetse considerente s-au studiat unii parametri ai metabolismului şi influenţa asupra lor a preparatelor entomologice.

La administrarea $CCl_4$ în doze toxice s-a constatat o tendinţă de micşorare a nivelului glucozei în sânge de la 4,13 ± 0,16 până la 4,08 ± 0,4 mmol/l ($P > 0,05$) Entoheptinul, utilizat preventiv timp de 7 zile în doză de 50 mg/100g până la acţiunea hepatotoxicului, a contribuit la dezvoltarea unei hipoglicemii mai marcate faţă de lotul de control (tab.3.1.1.17). Imuheptinul în aceste condiţii a manifestat o tendinţă de majorare a nivelului glucozei în sânge de la 4,13 + 0,16 până la 4,41 ± 0,45 mmol/l ($P > 0,05$), iar imupurinul nu influenţa efectul produs de hepatotoxic, menţinând aceeaşi tendinţă spre hipoglicemie (tab.3.1.1.17). Astfel, în afecţiunea acută a ficatului indusă prin tetraclorura de carbon se constată o hipoglicemie uşoară care nu este influenţată de imupurin, accentuată de entoheptin şi preîntâmpinată de imuheptin. Acestea din urmă sunt confirmate prin modificări neesenţiale ale CAH.

Administrarea $CCl_4$ a provocat la şobolani micşorarea nivelului glucozei în sânge cu reducerea conţinutului glicogenului în ficat (Ситников И.Г. и др., 2005, Хотимченко М.Б., Сонина Л.Н., 2006).

Peste 24 ore după administrarea dozelor toxice de paracetamol s-a constatat o micşorare nesemnificativă a nivelului glucozei de la 4,13 ± 0,16 până la 4,06 ± 0,3 mmol/l ($P > 0,05$). Entoheptinul şi imupurinul, utilizaţi preventiv timp de 7 zile în doză de 50 mg/100g până la acţiunea hepatotoxicului, au contribuit la dezvoltarea unei hiperglicemii moderate faţă de lotul de control (tab.3.1.1.18). Imuheptinul în aceste condiţii a manifestat o majorarea seminificativă a nivelului glucozei în sânge de la 4,13 ± 0,16 până la 4,93 ± 0,29 mmol/l ($P < 0,05$). Astfel, în afecţiunea acută a ficatului, indusă prin paracetamol, se constata o hipoglicemie uşoară care era preîntâmpinată de preparatele entomologice.

*Tabelul 3.1.1.17*

**Modificarea conţinutului glucozei şi proteinelor totale în sânge, indicelui de hepatoprotecţie (IH) şi coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) în afecţiunea hepatică indusă prin tetraclorura de carbon şi utilizarea preparatelor entomologice**

| Nr. d/o | Grupele | Numărul şobolanilor | Glucoza (mmol/l) | IH % | CAH | Proteinele totale (g/dl) | IH % | CAH |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Intact | 12 | 4,13 ± 0,16 | | | 6,27 ± 0,31 | | |
| 2 | $CCl_4$ (0,4 ml/kg ) | 7 | 4,08 ± 0,4<br>$P_{1-2} > 0,05$ | | | 6,39 ± 0,36<br>$P_{1-2} > 0,05$ | | |
| 3 | Entoheptin (50 mg/100g) 7 zile + $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 9 | 3,56 ± 0,19<br>$P_{1-3} > 0,05$<br>$P_{2-3} > 0,05$ | 91 | -0,13 | 6,05 + 0,17<br>$P_{1-3} > 0,05$<br>$P_{2-3} > 0,05$ | 46 | -0,05 |
| 4 | Imuheptin (50mg/100g) 7 zile + $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 10 | 4,41 ± 0,45<br>$P_{1-4} > 0,05$<br>$P_{2-4} > 0,05$ | 82 | 0,08 | 6,46 + 0,23<br>$P_{1-4} > 0,05$<br>$P_{2-4} > 0,05$ | 37 | 0,01 |
| 5 | Imupurin (50mg/100g 7 zile + $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 10 | 4,07 ± 0,34<br>$P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{2-5} > 0,05$ | 17 | 0 | 5,6 ± 0,19<br>$P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{2-5} > 0,05$ | 82 | -0,12 |

Conţinutul proteinelor totale în sânge la dozele toxice ale tetraclorurii de carbon s-a majorat necesenţial (tab.3.1.1.17). La utilizarea preventivă a entoheptinului timp de 7 zile nivelul proteinelor totale peste 24 ore după injectarea hepatotoxicului a constituit 6,05 ± 0,17 faţă de 6,39 ± 0,36 g/dl (P> 0,05) în lotul de control şi 6,27 ± 0,31 g/dl (P> 0,05) în lotul intact. O tendinţă similară a manifestat şi imupurinul la utilizarea preventivă faţă de conţinutul parametrului studiat la animalele cu afecţiune hepatică toxică (tab.3.1.1.17). Imuheptinul în aceste condiţii a contribuit la o creştere nesemnificativă a proteinemiei atât faţă de lotul intact, cât şi cel cu leziunea toxică a ficatului (tab.3.1.1.17). Cele expuse ne permit să concluzionăm că în hepatită toxică acută indusă prin tetraclorura de carbon nivelul proteinelor totale nu suferă modificări esenţiale, ce ne denotă despre faptul că funcţia sintetică este puţin influenţată. Preparatele entomologice modifică neunivoc parametrul studiat. Entoheptinul şi imupurinul inversează efectul hepatotoxicului, iar imuheptinul îl intensifică puţin. Cele relatate sunt confirmate de CAH (tab.3.1.1.17).

Datele referitoare la modificarea nivelului proteinelor totale în afecţiunea hepatică indusă prin $CCl_4$ sunt contradictorii. Astfel unii autori au menţionat micşorarea conţinutului proteinelor totale (Hassan H.A., El-gendy A.M., 2003, Alqasoumi S., 2010, Ahmed F., Urooj A., 2010, Akindele A.J.et al., 2010, Raj V.P.et al., 2010, Jadhav V.B.et al., 2010, Xiao-Wen Li et al., 2010, Alisi C.S.et al., 2011, Kumarappan C.et al., 2011, Nema A.V.et al., 2011, Ситников И.Г. и др., 2005, Саратиков А.С. и др. 2008, Чучалин В.С.и др., 2010), alţii majorarea (Коломиец Н.Э.и др., 2007,), iar o parte au relatat că acesta nu se modifică (Попова И.Ю.и др. 2006).

*Tabelul 3.1.1.18*

**Modificarea conţinutului glucozei şi proteinelor totale în sânge, indicelui de hepatoprotecţie (IH) şi coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) în afecţiunea hepatică indusă prin paracetamol şi utilizarea preparatelor entomologice**

| Nr. d/o | Grupele | Numărul şobolanilor | Glucoza (mmol/l) | IH % | CAH | Proteinele totale (g/dl) | IH % | CAH |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Intact | 12 | 4,13 ± 0,16 | | | 6,27 ± 0,31 | | |
| 2 | Paracetamol 500 mg/kg | 7 | 4,06 ± 0,3<br>$P_{1-2} > 0,05$ | | | 6,39 ± 0,22<br>$P_{1-2} > 0,05$ | | |
| 3 | Entoheptin (50 mg/100g) 7 zile + paracetamol 500 mg/kg | 10 | 4,38 ± 0,37<br>$P_{1-3} > 0,05$<br>$P_{2-3} > 0,05$ | 72 | 0,07 | 6,55 ± 0,17<br>$P_{1-3} > 0,05$<br>$P_{2-3} > 0,05$ | 57 | 0,02 |
| 4 | Imuheptin (50mg/100g) 7 zile + paracetamol 500 mg/kg | 10 | 4,93 ± 0,29<br>$P_{1-4} < 0,05$<br>$P_{2-4} > 0,05$ | 91 | 0,21 | 6,75 ± 0,4<br>$P_{1-4} > 0,05$<br>$P_{2-4} > 0,05$ | 75 | 0,05 |
| 5 | Imupurin (50mg/100g) 7 zile+ paracetamol 500 mg/kg | 10 | 4,55 ± 0,22<br>$P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{2-5} > 0,05$ | 83 | 0,12 | 6,67 ± 0,14<br>$P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{2-5} > 0,05$ | 70 | 0,04 |

E cunoscut că $CCl_4$ afectează membranele reticulului endoplasmatic cu dereglarea sintezei proteinelor. Hepatotoxicul a micşorat sinteza ADN în nucleu şi, îndeosebi în mitocondrii, fapt ce relevă că afectarea funcţiilor mitocondriilor este cauzată de activitatea metabolică a $CCl_4$ nemijlocit în aceste organite, deoarece cuplarea covalentă cu ADN mitocondrial este de zeci de ori mai mare decât cu ADN nuclear. Concomitent, sinteza ADN mitocondrial este mai sensibilă la acţiunea lezantă a hepatotoxicului decât cea a ADN nuclear (Инатова О.М., 2005).

Tetraclorura de carbon în doza de 0,1 ml/100 g intraperitoneal a contribuit la micşorarea sintezei ARN (preponderent ARNm) ce poate fi determinată de dereglarea transcripţiei şi/sau activarea nucleazelor (Инатова О.М., 2005).

Dozele toxice ale paracetamolului au contribuit la majorarea neesenţială a conţinutul proteinelor totale în sânge (tab.3.1.1.18). La utilizarea preventivă a entoheptinului, imuheptinului şi imupurinului timp de 7 zile nivelul proteinelor totale peste 24 ore după injectarea hepatotoxicului a constituit respectiv 6,55 ± 0,17, 6,75 ± 0,4 şi 6,67 ± 0,14 g/dl faţă de 6,39 ± 0,36 g/dl (P> 0,05) în lotul de control şi 6,27 ± 0,31 g/dl (P> 0,05) în lotul intact. Cele expuse ne permit să concluzionăm că în hepatită toxică acută indusă prin paracetamol nivelul proteinelor totale nu suferă modificări esenţiale, ce ne denotă despre faptul că funcţia sintetică este puţin influenţată. Preparatele entomologice menţin conţinutul proteinelor în limitele normei.

*Tabelul 3.1.1.19*

**Modificarea conţinutului creatininei şi ureei în sânge, indicelui de hepatoprotecţie (IH) şi coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) în afecţiunea hepatică indusă prin tetraclorura de carbon şi utilizarea preparatelor entomologice**

| Nr. d/o | Grupele | Numărul şobolanilor | Ureea mmol/l | IH % | C A H | Creatinina mcmol/l | IH % | C A H |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Intact | 12 | 2,88 ± 0,21 | | | 76,8 ± 6,0 | | |
| 2 | $CCl_4$<br>(0,4 ml/kg ) | 7 | 2,36 ± 0,33<br>$P_{1-2} > 0,05$ | | | 74,4 ± 7,0<br>$P_{1-2} > 0,05$ | | |
| 3 | Entoheptin<br>(50 mg/100g) 7 zile +<br>$CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 9 | 3,71 + 0,29<br>$P_{1-3} < 0,05$<br>$P_{2-3} < 0,05$ | 37 | 0,57 | 328,9 ± 31,7<br>$P_{1-3} < 0,001$<br>$P_{2-3} < 0,001$ | 99 | 3.34 |
| 4 | Imuheptin (50mg/100g)<br>7 zile+ $CCl_4$ (0,4 ml/kg) | 10 | 5,82 ± 0,83<br>$P_{1-4} < 0,001$<br>$P_{2-4} < 0,05$ | 82 | 1,47 | 299,0 ± 9,0<br>$P_{1-4} < 0,001$<br>$P_{2-4} < 0,001$ | 99 | 3.03 |
| 5 | Imupurin (50mg/100g)<br>7 zile + $CCl_4$ (0,4ml/kg) | 10 | 3,24 + 0,36<br>$P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{2-5} > 0,05$ | 31 | 0,37 | 81,6 + 5,3<br>$P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{2-5} > 0,05$ | 50 | 0,1 |

Datele referitor la nivelul proteinelor totale în afecţiunea hepatică, indusă prin paracetamol, sunt contradictorii. S-a constatat atât majorarea conţinutului acestora (Al-Sowyan N.S., 2009), cât şi micşorarea lui (Yousef M.I.et al., 2010, Lahon K., Das S., 2011, Вохминцева Л.В. и др., 2007, Демидов В.И. и др., 2011) la administrarea internă sau parenterală a analgezicului în dozele toxice. Creşterea nivelului proteinelor totale era asociat cu diminuarea celui al albuminelor şi indicelui albumine/globuline şi cu majorarea concentraţiei globulinelor. Stresul oxidativ, indus de paracetamol, creşte nivelul globulinelor prin eliberarea mediatorilor inflamaţiei, inclusiv de celulele Kupffer şi endoteliale, iar activarea acestora contribuie la formarea speciilor reactive ale oxigenului cu lezarea hepatocitelor. Concomitent se remarcă că intoxicaţia acută cu paracetamol diminuiază sinteza albuminelor şi o creşte pe cea a gama-globulinelor cu micşorarea indicelui albumine/globuline (Al-Sowyan N.S., 2009).

Cvercetina a anihilat capacitatea paracetamolului în doze toxice de a micşora nivelul proteinelor totale şi de creştere concomitentă celui a ureei şi creatininei (Yousef M.I.et al., 2010).

Paracetamolul în doza de 1000 mg/kg a cauzat o micşorare cu 15% a concentraţiei proteinelor totale (Вохминцева Л.В. и др., 2007).

La modelarea afecţiunii hepatice prin paracetamol (2 g/kg intern) la şobolani s-a constatat o micşorare a nivelului proteinelor totale, albuminelor şi coeficientului albumine/globuline. În acest caz extractul din *Ocimum sanctum*, care conţine acid linoleic (acţiune antiinflamatoare şi membranostabilizatoare), a manifestat efect hepatoprotector, care se potenţa reciproc la asocierea cu silimarină (Lahon K., Das S., 2011).

Acetaminofenul în doză unică de 700 mg/kg intern la şobolani a determinat o diminuare nesemnificativă a nivelului proteinelor totale. Tratamentul cu preparatul prohepar (conţine aminoacizi esenţiali, oligopeptide, nucleotide, cisteină, cianocobalamină, mioinozitol, colină) a contribuit la majorarea conţinutului proteinelor totale (Демидов В.И. и др., 2011). Autorii consideră că efectul preparatului este determinat de acţiunea componenţilor. Astfel, cisteina este donator de SH-grupe, care sunt esenţiale pentru detoxicare şi activitatea sistemului antioxidant, colina şi mioinozitolul prin donarea grupelor $CH_3$ contribuie la metilare, iar cianocobalamina asigură transportul acestora, în timp ce aminoacizii, oligopeptidele şi nucleotidele sunt necesare pentru procesele metabolice şi de sinteză.

Peste 24 ore de la injectarea dozei toxice de tetraclorură de carbon s-a constatat o diminuare nesemnificativă a conţinutului creatininei de la 76,8 ± 6,0 până la 74,4 ± 7,0 mcmol/l ($P > 0,05$). La utilizarea timp de o săptămână a entoheptinului şi imuheptinului s-a depistat o majorare considerabilă a parametrului studiat (tab.3.1.1.19). În acelaşi timp, imupurinul manifesta doar o tendinţă de creştere a nivelului creatininei de la 74,4 ± 7,0 până la 81,6±5,3 mcmol/l ($P > 0,05$).

*Tabelul 3.1.1.20*

**Modificarea conţinutului creatininei şi ureei în sânge, indicelui de hepatoprotecţie (IH) şi coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) în afecţiunea hepatică indusă prin paracetamol şi utilizarea preparatelor entomologice**

| Nr. d/o | Grupele | Numărul şobolanilor | Ureea mmol/l | IH % | CAH | Creatinina mcmol/l | IH % | CAH |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Intact | 12 | 2,88 ± 0,21 | | | 76,8 ± 6,0 | | |
| 2 | Paracetamol 500 mg/kg | 7 | 3,26 ± 0,8<br>$P_{1-2} > 0,05$ | | | 74,1 ± 6,0<br>$P_{1-2} > 0,05$ | | |
| 3 | Entoheptin (50mg/100g) 7 zile + paracetamol 500 mg/kg | 10 | 4,73 ± 0,77<br>$P_{1-3} < 0,05$<br>$P_{2-3} > 0,05$ | 80 | 0,45 | 331,9 ± 48,8<br>$P_{1-3} < 0,001$<br>$P_{2-3} < 0,001$ | 99 | 3,48 |
| 4 | Imuheptin (50mg/100g) 7 zile + paracetamol 500 mg/kg | 10 | 7,07 ± 0,66<br>$P_{1-4} < 0,05$<br>$P_{5-4} < 0,05$ | 91 | 1,16 | 299,5 ± 10,5<br>$P_{1-4} < 0,001$<br>$P_{2-4} < 0,001$ | 99 | 3,04 |
| 5 | Imupurin (50mg/100g) 7 zile + paracetamol 500 mg/kg | 10 | 3,92 ± 0,39<br>$P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{2-5} > 0,05$ | 64 | 0,2 | 87,0 ± 4,2<br>$P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{2-5} > 0,05$ | 74 | 0,17 |

La injectarea dozei toxice de paracetamol peste 24 ore s-a determinat o micşorare nesemnificativă a conţinutului creatininei de la 76,8 ± 6,0 până la 74,1 ± 6,0 mcmol/l ($P > 0,05$). Preparatele entomologice la utilizarea timp de o săptămână au contribuit la inversarea efectului hepatotoxicului faţă de nivelul creatininei. Astfel, entoheptinul şi imuheptinul au contribuit la o majorare considerabilă a parametrului studiat (tab.3.1.1.20), iar imupurinul manifesta doar o tendinţă de creştere a nivelului creatininei de la 74,4 ± 7,0 până la 87,0 + 4,2 mcmol/l ($P > 0,05$).

Ureea denotă despre capacitatea ficatului de a detoxifica amoniacul, produs prin metabolizarea aminoacizilor. Dozele toxice ale $CCl_4$ micşorau nivelul ureei de la 2,88 ± 0,21 până la 2,36 ± 0,33 mmol/l ($P>0,05$). La administrarea preventivă timp de 7 zile a entoheptinului şi imuheptinului s-a semnalat o majorare semnificativă a conţinutului ureei în sânge (tab.3.1.1.19). Imupurinul în aceste condiţii a contribuit la creşterea parametrului studiat de la 2,36 ± 0,33 până la 3,24 ± 0,36 mmol/l ($P>0,05$). Astfel, preparatele entomologice preîntâmpină tendinţa spre hipocreatininemie şi hipouremie, indusă de hepatotoxic.

Paracetamolul în doze toxice unice peste 24 ore provoca o majorare a nivelului ureei de la 2,88 ± 0,21 până la 3,26 ± 0,8 mmol/l ($P > 0,05$). La administrarea preventivă timp de 7 zile a entoheptinului şi imuheptinului s-a semnalat o majorare semnificativă a conţinutului ureei în sânge (tab.3.1.1.20). Imupurinul în aceste condiţii a contribuit la creşterea parametrului studiat de la 3,26 ± 0,8 până la 3,92 ± 0,39 mmol/l ($P > 0,05$). Astfel, preparatele entomologice determinau o hipercreatininemie şi hiperuremie la administrarea dozelor toxice de hepatotoxic.

În afecţiunea hepatică indusă prin paracetamol (500 mg/kg timp de 1-3 zile) s-a constatat la a 4 –a zi o majorare a nivelului ureei (1,5 ori) şi creatininei (2 ori) cu o tendinţă nesemnificativă de micşorare la a 14-a zi (Gopi K.S.et al., 2010). Autorii consideră că aceste efecte sunt cauzate de sporirea catabolismului proteinelor prin formarea sub influenţa citocromului P-450 a metabolitului NAPQI şi cuplarea acestuia cu macromoleculele celulare. Silimarina în aceste condiţii a manifestat efecte benefice datorită efectului antioxidant cu captarea radicalilor liberi.

Preparatele entomologice, îndeosebi imuheptinul, au manifestat efecte benefice în afecţiunea hepatică indusă prin paracetamol şi mai puţin prin tetraclorura de carbon, posibil, prin mai multe mecanisme. Un aport esenţial, probabil, îl aduc aminoacizii esenţiali şi non-esenţiali. Un rol deosebit l-am menţiona pentru cisteină care participă la sinteza glutationului, precum şi la cuplarea metaboliţilor paracetamolului, micşorând astfel toxicitatea lor. Un rol similar îl are şi metionina care se poate transforma în cisteină sau stimula procesele de sulfatare prin donarea sulfat-ionului (Венгеровский А.И., Саратников А.С., 1991). Entoheptinul, imuheptinul şi imupurinul în acest aspect conţin cantităţi impotante de aceşti aminoacizi (Ghicavîi şi coaut., 2006). Indiscutabil este că un rol important în păstrarea sau restabilirea funcţiei hepatocitelor îl pot juca şi alţi aminoacizi ca: acidul glutamic, triptofanul, arginina, serina, acidul asparagic, fenilalanina etc., care pot fi substraturi pentru enzimele respective (AlAT, AsAT, LDH).

O verigă importantă a hepatotoxicităţii paracetamolului reprezintă formarea de radicali liberi cu activarea POL şi diminuarea activităţii sistemului antioxidant (Kikkawa R. şi coaut., 2005; Bhattacharjee H., Sil P.C., 2006; Kupeli E şi coaut., 2006). În acest context preparatele entomologice conţin o cantitate importantă de antioxidanţi hidrosolubili (V. Ghicavîi şi coaut., 2006).

Analiza integrală a parametrilor studiaţi în baza CAH în afecţiunea hepatică, indusă prin $CCl_4$ şi paracetamol, este prezentată în tabelul 3.1.1.21. Astfel, în leziunea hepatică, provocată de $CCl_4$, imuheptinul manifesta cea mai mare activitate hepatoprotectoare prin diminuarea sindromului de citoliză (CAH sumar - 0,41) şi colestază (CAH sumar – 0,34), ameliorarea parametrilor funcţiilor metabolice şi de sinteză (CAH sumar – 0,52) şi preîntâmpinarea proceselor de peroxidare a lipidelor (CAH sumar – 0,84). În aceste condiţii imupurinul a influenţat mai benefic asupra sindromului de citoliză (CAH sumar – 0,41) şi moderat a insuficienţei

*Tabelul 3.1.1.21*

**Activitatea hepatoprotectoarte (după CAH) a preparatelor entomologice asupra sindroamelor hepatice în afecţiunile toxice induse de $CCl_4$ şi paracetamol**

| Sindromul | parametrii | $CCl_4$ | | | Paracetamol | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Entoheptin | Imuheptin | Imupurin | Entoheptin | Imuheptin | Imupurin |
| Citoliză | AsAT | 0,03 | 0,07 | 0,12 | 0,15 | 0,13 | 0,33 |
| | AlAT | 0,28 | 0,57 | 0,66 | 1,9 | 1,25 | 1,8 |
| | LDH | 0,74 | 0,59 | 0,55 | 0,48 | 0,56 | 0,4 |
| | **CAHS** | **0,35** | **0,41** | **0,41** | **0,84** | **0,61** | **0,81** |
| Colestază | **GGTP** | **0,13** | **0,34** | **0,04** | **0,46** | **0,48** | **0,3** |
| Intoxicaţii endogene | SN | 0,01 | 0,3 | 0,05 | 0,33 | 0,45 | 0,22 |
| | PMMM | -0,01 | 0,01 | 0,1 | -0,01 | 0,12 | 0,12 |
| | **CAHS** | **0,0** | **0,15** | **0,08** | **0,16** | **0,29** | **0,17** |
| Insuficienţă hepatocelulară | Glucoza | 0,13 | 0,08 | 0 | 0,08 | 0,21 | 0,12 |
| | Pr.totale | -0,05 | 0,01 | 0,12 | 0,02 | 0,06 | 0,04 |
| | Ureea | 0,57 | 1,47 | 0,37 | 0,45 | 1,17 | 0,2 |
| | **CAHS** | **0,22** | **0,52** | **0,16** | **0,18** | **0,47** | **0,12** |
| Modificări morfologice | Indicele m.f/m.c | **0,03** | **0,03** | **0,05** | **0,12** | **0,15** | **0,12** |
| | Histologic | - | ± | - | + | + | + |
| Stresul oxidativ | HPLi | 1,34 | 1,19 | 0,08 | 0,23 | 1,1 | 0 |
| | HPLm | 1,03 | 0,74 | -0,09 | 0,26 | 0,85 | 0,06 |
| | HPLf | 0,73 | 0,53 | 0,04 | 0,14 | 0,5 | 0 |
| | **CAHS** | **1,05** | **0,84** | **0,01** | **0,31** | **0,81** | **0,02** |
| | AAT | 0,17 | -0,02 | -0.05 | 0,18 | 0,22 | -0,03 |
| | Ceruloplasmina | -0,07 | -0,12 | -0,11 | 0,15 | -0,17 | -0,28 |
| | Carnozina | 0,07 | 0,06 | 0,09 | 0,15 | 0,16 | 0 |
| | **CAHS** | **0,06** | **-0,03** | **-0,02** | **0,16** | **0,07** | **-0,1** |

hepatocelulare (CAH sumar -0,16). Entoheptinul mai efectiv a intervenit asupra diminuării proceselor de peroxidare a lipidelor (CAH sumar – 1,05) şi moderat a sindromului de citoliză (CAH sumar – 0,35) şi de insuficienţă hepatocelulară (CAH sumar - 0,22).

Preparatele entomologice s-au dovedit mai efective în preîntâmpinarea hepatotoxicităţii paracetamolului. Aceasta s-a relevat în primul rând prin prevenirea dereglărilor morfologie şi creşterii masei ficatului. Pretratamentul cu preparatele entomologice cel mai efectiv a anihilat dezvoltarea sintromului de citoliză (CAH sumar a constituit la entoheptin – 0,84, la imuheptin – 0,61, la imupurin – 0,81) şi colestază (CAH sumar – 0,46 la entoheptin, 0,48 la imuheptin şi 0,3 la imupurin). În acelaşi timp imuheptinul a demonstrat o capacitate mai mare de a preveni: intensificarea formării hidroperoxizilor (CAH sumar – 0,81) cu menţinerea la un nivel moderat a activităţii antioxidanţilor (CAH sumar – 0,22); dezvoltarea sindromului de insuficienţă hepatocelulară (CAH sumar – 0,47). Concomitent s-a constatat o diminuare moderată a sindromului intoxicaţiei endogene (CAH sumar – 0,29). Entoheptinul a demonstrat abilitate moderată de ameliorare a stresului oxidativ şi insuficienţei hepatocelulare. Imupurinul, de rând cu preîntâmpinarea dereglărilor morfologice şi sindromului de citoliză, a exercitat o influenţă moderat-uşoară asupra dezvoltării colestazei şi perturbărilor metabolice şi sintetice (tab.3.1.1.21).

**Concluzii:**

1. Pretratamentul cu preparatele entomologice preîntâmpină dezvoltarea dereglărilor morfologice în ficat, produse de paracetamol, fără a le influenţa semnificativ pe cele induse de $CCl_4$.
2. Preparatele entomologice diminuează efectiv hepatotoxicitarea paracetamolului prin normalizarea activităţii AlAT şi micşorarea celei a AsAT, majorarea raportului de *Ritis* cu manifestarea unui II şi CAH important.
3. Imuheptinul şi imupurinul, mai puţin entoheptinul, reduc toxicitatea $CCl_4$ prin micşorarea activităţii AlAT, raportului de *Ritis*, însoţite de un II şi CAH moderat.
4. Tetraclorura de carbon şi paracetamolul induc un sindrom uşor de colestază, preîntâmpinat de pretratamentul cu preparatele entomologice, îndeosebi imuheptin.
5. Preparatele entomologice diminuează dezvoltarea sindromului de intoxicaţie endogenă (prepondernt prin micşorarea nivelului SN) indus de paracetamol, iar imuheptinul şi pe cel provocat de $CCl_4$.
6. Entoheptinul şi imuheptinul preîntâmpină formarea hidroperoxizilor lipidici la acţiunea $CCl_4$ şi paracetamolului, cu menţinerea activităţii antioxidante totale la nivelul animalelor intacte în cazul tetraclorurii de carbon şi restabilirii în cazul paracetamolului.
7. Pretratamentul cu preparatele entomologice, în afecţiunea hepatică cu paracetamol, contribuie la menţinerea adecvată a proceselor energetice (nivelul glicemiei) şi sintetice (conţinutul proteinelor totale şi ureei).

8. Imuheptinul, în afecţiunea hepatică indusă prin $CCl_4$, a determinat un echilibru al proceselor energetice şi sintetice.

9. Preparatele entomologice preîntâmpină hepatotoxicitatea paracetamolului cu: păstrarea structurii normale a ficatului; împiedicarea dezvoltării sindroamelor de citoliză, colestază, intoxicaţie endogenă şi insuficienţă hepatocelulară; reducerea proceselor de peroxidare a lipidelor.

10. Imuheptinul, în comparaţie cu entoheptinul şi imupurinul, a manifestat o capacitate mai importantă de a reduce intensitatea sindroamelor de citoliză, colestază, intoxicaţie endogenă şi insuficienţă hepatocelulară cu o ameliorare uşoară a dereglărilor morfologice în ficat în afecţiunea hepatică indusă de $CCl_4$.

11. Preparatele entomologice pot anihila într-o măsură sau alta acţiunea hepatotoxică a $CCl_4$ prin: diminuarea formării metaboliţilor toxici intermediari; amplificarea proceselor de protecţie a membranelor hepatocitelor prin complexele lipoproteice, aminoacizii esenţiali şi non-esenţiali; reducerea intensităţii proceselor peroxidării lipidelor şi menţinerea activităţii sistemului antioxidant prin antioxidanţii hidrosolubili; ameliorarea proceselor metabolice şi plastice prin complexele lipoproteice, aminoacizii esenţiali şi non-esenţiali;

12. Acţiunea profilactică a preparatelor entomologice, în afecţiunea hepatică indusă prin paracetamol, poate fi determinată de: creşterea nivelului de substraturi endogene (GSH etc.), importante pentru detoxicarea metabolitului (NAPQI) prin aminoacizii constituenţi (cisteina, metionina etc.); realizarea efectului hepatoprotector prin complexele lipoproteice, aminoacizii esenţiali şi non-esenţiali; asigurarea proceselor energetice şi sintetice prin proteine, lipide şi aminoacizi; anihilarea proceselor de peroxidare a lipidelor şi restabilirea activităţii antioxidante prin antioxidanţii hidrosolubili.

### 3.1.2 Tratamentul cu preparate entomologice a afecţiunii toxice a ficatului

Studiul substanţelor cu proprietăţi hepatoprotectoare prevede aprecierea acţiunii curative a acestora prin administrarea lor pe fundalul patologiei hepatice formate. Cu acest scop s-a modelat afecţiunea hepatică toxică prin administrarea unimomentană a dozei subletale de paracetamol (500 mg/kg). În conformitate cu recomandările metodice eficacitatea preparatelor cercetate s-a determinat prin analiza influenţei entoheptinului, imuheptinului şi imupurinului asupra parametrilor sindromului de citoliză (AsAT, AlAT, LDH, SDH), colestază (FAI, GGTP) şi insuficienţei hepatocelulare (glucoza, proteinele totale, colesterolul total, ureea, creatinina). Pentru aprecierea comparativă a acţiunii hepatoprotectoare s-a utilizat indicele de hepatoprotecţie (IH) şi coeficientul activităţii hepatoprotectoare (CAH), inclusiv sumar, în baza parametrilor studiaţi.

Studiul aprofundat al proprietăţilor hepatoprotectoare a fost efectuat pe modele de afecţiune hepatică provocată prin paracetamol pentru aprecierea eficacităţii entoheptinului, imuheptinului şi imupurinului asupra evoluţiei leziunilor hepatice toxice (prin utilizarea preparatelor după injectarea hepatotoxicelor timp de 7 şi 14 zile). Pentru modelarea hepatitei toxice prin paracetamol s-a folosit o doză unică de 500 mg/kg (Lee J.W. et al., 2003, Masson M.J.et al., 2009, Adeneye A.A., 2009, Gopi K.S.et al., 2010, Canbay A.et al., 2011), reieşind din faptul că în literatura de specialitate preparatul se utiliza intern sau parenteral în doze de la 200 la 2500 mg/kg. (Price V., Jollow D., 1989, Lin s. Etc, 1994, Hessel G. Et al., 1998, Nirala S.K., Bhadauria M., 2008, Yalcin S. et al., 2008, Мелентьева А.Н., 2007, Вохминцева Л.В. т др., 2007, Демидов В.И. и др., 2011)

Pentru studiul influenţei preparatelor entomologice asupra evoluţiei afecţiunii hepatice de tip toxic experienţele s-au efectuat prin administrarea unei singure doze de 500 mg/kg de paracetamol intraperitoneal. Animalele au fost subdivizate în 9 grupe: I - lotul intact; II – paracetamol 500mg/kg în doză unică în prima zi cu studiul parametrilor biochimici peste 7 zile; III - paracetamol 500mg/kg doză unică în prima zi + entoheptin 50 mg/100g per os timp de 7 zile; IV - paracetamol 500mg/kg doză unică în prima zi + imuheptin 50 mg/100g per os timp de 7 zile; V - paracetamol 500mg/kg doză unică în prima zi + imupurin 50 mg/100g per os timp de 7 zile; VI - paracetamol 500mg/kg doză unică în prima zi cu studiul parametrilor biochimici peste 14 zile; VII- paracetamol 500mg/kg doză unică în prima zi + entoheptin 50 mg/100g per os timp de 14 zile; VIII - paracetamol 500mg/kg doză unică în prima zi + imuheptin 50 mg/100g per os timp de 14 zile; IX - paracetamol 500mg/kg doză unică în prima zi + imupurin 50 mg/100g per os timp de 14 zile. Substanţele cercetate se administrau intern, fiind amestecate în bolul alimentar. Animalele erau supravegheate până ingerau bolul alimentar. După 7 şi 14 zile animalele erau sacrificate prin eutanasie cu determinarea parametrilor biochimici în sânge (glucozei, colesterolului, proteinelor totale, creatininei, ureei, AsAT, AlAT, LDH, SDH, FAl, GGTP) şi în ficat (AsAT, AlAT, FA, GGT, LDH).

După cum s-a menţionat în capitolul 1.2.2, afecţiunile hepatice induse prin supradozarea paracetamolului reprezintă cel mai frecvent factor etiologic al insuficienţei hepatice acute, inclusiv fulminante, la adulţi şi copii, precum şi cauza cea mai importantă de transplant hepatic. În acelaşi timp intoxicaţiile cu analgezic sunt responsabile de decesul a sute şi mii de persoane anual.

Aspartataminotransferaza şi alaninaminotransferaza reprezintă enzimele cele mai importante în diagnosticarea afecţiunilor hepatice de diferită origine şi în aprecierea proprietăţilor hepatoprotectoare ale preparatelor cercetate. Datele despre influenţa entoheptinului, imuheptinului şi imupurinului asupra modificărilor activităţii transaminazelor în afecţiunea hepatică indusă prin paracetamol sunt prezentate în tabelul 3.1.2.1.

Paracetamolul, după administrarea intraperitoneală unimomentană în doza de 500 mg/kg (lotul de control), peste 7 zile a determinat o creştere în ser a activităţii AsAT de circa 2 ori ( de la 164,2±10,9 până la 325,0±34,9 U/l; P<0,05) şi AlAT de 2,65 ori (de la 56,7±2,8 până la 150,7± 19,4 U/l; P<0,05). În aceste condiţii s-a constatat o micşorare a raportului de Ritis de la 2,89 la animalele intacte până la

2,15 la cele din lotul cu paracetamol, ca urmare a unei creşteri mai semnificative a activităţii AlAT, enzimă prezentă preponderent în citoplasmă.

Tratarea animalelor cu entoheptin, în doza de 50 mg/100g pe parcursul a 7 zile după doza toxică de paracetamol, a determinat o diminuare nesemnificativă a activităţii transaminazelor (tab.3.1.2.1). Astfel, activitatea AsAT şi AlAT era majorată de 1,8 ori, faţă de 2 şi 2,65 ori în lotul de control. Acestea din urmă au contribuit la o majorare a raportului de Ritis de la 2,15 (lotul de control) până la 2,8 la animalele tratate cu entoheptin.

O diminuare mai accentuată a activităţii transaminazelor s-a constatat la şobolanii trataţi timp de o săptămână cu imuheptin. Astfel, activitatea AsAT s-a micşorat faţă de lotul de control de la 325,0±34,9 până la 241,7±39,0 U/l ($P>0,05$), iar cea a AlAT de la 150,7± 19,4 până la 96,5+17,9 U/l ($P>0,05$). În aceste condiţii, activitatea acestora era doar de 1,47 şi 1,7 ori mai mare faţă de animalele intacte, fapt ce a contribuit la o majorare a raportului de Ritis de la 2,15 la 2,5.

Imupurinul, administrat timp de 7 zile la animalele cu afecţiune hepatică experimentală, a determinat cel mai slab efect benefic asupra reducerii activităţii transaminazelor. Preparatul entomologic a manifestat o tendinţă de micşorare a activităţii AsAT (de la 325,0±34,9 până la 314,6±19,2 U/l ($P>0,05$)) şi AlAT (de la 150,7± 19,4 până la 124,0±9,1 U/l ($P>0,05$)), relevată prin creşterea raportului de Ritis de la 2,15 până la 2,52.

Analiza datelor obţinute ne-a demonstrat că preparatele entomologice, îndeosebi imuheptinul, manifestă acţiune benefică asupra evoluţiei afecţiunii hepatice induse prin paracetamol după 7 zile de tratament prin diminuarea mai accentuată a activităţii AlAT. Aceasta şi-a găsit reflectare şi prin IH şi CAH. Astfel, imuheptinul a manifestat un IH de 52% (faţă de AsAT) şi 58% (faţă de AlAT) şi un CAH de 0,34 (faţă de AsAT) şi 0,56 (faţă de AlAT). Un IH şi CAH mai mic s-a constatat la tratamentul cu entoheptin şi apoi cu imupurin (tab.3.1.2.1).

Injectarea intraperitoneală a paracetamolului în doza de 500 mg/kg a determinat peste14 zile o majorare a activităţii AsAT şi AlAT faţă de animalele intacte, cu o reducere neesenţială a activităţii transaminazelor faţă de şobolani peste 7 zile după administrarea hepatotoxicului (lotul 2) (tab.3.1.2.1). În aceste condiţii putem vorbi despre o diminuare proporţională a activităţii enzimelor respective, ce s-a relevat prin menţinerea raportului de Ritis la nivelul animalelor peste 7 zile.

Tratamentul cu entoheptin timp de 2 săptămâni, după administrarea dozei toxice de paracetamol, a contribuit la micşorarea activităţii AsAT de la 251,5±28,6 până la 207,5±9,3 U/l ($P<0,05$) şi AlAT de la 114,5±7,9 până la 90,7±6,1 U/l ($P<0,05$). Totodată, preparatul a manifestat o acţiune pozitivă mai relevantă şi faţă de utilizarea entoheptinului timp de o săptămână, îndeosebi prin diminuarea activităţii AsAT, fapt confirmat şi de menţinerea raportului de Ritis la nivelul şobolanilor din lotul de control la a 14-a zi (tab.3.1.2.1).

Administrarea timp de 2 săptămâni a imuheptinului, după modelarea afecţiunii toxice prin paracetamol, s-a soldat cu o dinamie pozitivă a activităţii transaminazelor, îndeosebi AsAT, faţă de lotul netratat (lotul 6) (tab.3.1.2.1). În aceste condiţii s-a constatat o micşorare a raportului de Ritis de la 2,2 la 1,92 ca urmare a reducerii de către imuheptin a activităţii AsAT de 1,4, iar a AlAT de 1,1 ori (faţă de animalele intacte AsAT rămânea majorată de 1,23 ori, iar AlAT – de 1,8 ori).

*Tabelul 3.1.2.1*

**Modificările activităţii AsAT şi AlAT în ser, indicelui de hepatoprotecţie (IH), coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) şi raportului de Ritis la şobolani în afecţiunea hepatică toxică prin paracetamol şi utilizarea preparatelor entomologice**

| Nr. d/o | Grupele | Numărul de animale | AsAT U/l | IH (%) | C A H | AlAT U/l | IH (%) | C A H | Raportul de Ritis |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Lotul intact | 7 | 164,2±10,9 | | | 56,7+2,8 | | | 2,89 |
| 2 | Paracetamol 500 mg/kg unimomentan peste 7 zile | 6 | 325,0+34,9<br>$P_{1-2}<0,05$ | | | 150,7± 19,4<br>$P_{1-2}<0,05$ | | | 2,15 |
| 3 | Paracetamol 500mg/kg +entoheptin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 296,6±21,1<br>$P_{1-3}<0,05$<br>$P_{2-3}>0,05$ | 18 | 0,1 | 105,8±14,1<br>$P_{1-3}<0,05$<br>$P_{2-3}>0,05$ | 48 | 0,42 | 2,8 |
| 4 | Paracetamol 500 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g 7 zile | 6 | 241,7±39,0<br>$P_{1-4}<0,05$<br>$P_{2-4}>0,05$ | 52 | 0,34 | 96,5±17,9<br>$P_{1-4}<0,05$<br>$P_{2-4}>0,05$ | 58 | 0,56 | 2,5 |
| 5 | Paracetamol 500 mg/kg + imupurin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 314,6±19,2<br>$P_{1-5}<0,05$<br>$P_{2-5}>0,05$ | 8 | 0,03 | 124,0±9,1<br>$P_{1-5}<0,05$<br>$P_{2-5}>0,05$ | 30 | 0,21 | 2,52 |
| 6 | Paracetamol 500 mg/kg unimomentan peste 14 zile | 6 | 251,5±28,6<br>$P_{1-6}<0,05$<br>$P_{2-6}>0,05$ | | | 114,5+7,9<br>$P_{1-5}<0,05$<br>$P_{2-5}>0,05$ | | | 2,2 |
| 7 | Paracetamol 500 mg/kg +entoheptin 50 mg/100g 14 zile | 6 | 207,5+9,3<br>$P_{1-7}>0,05$<br>$P_{3-7}<0,05$<br>$P_{6-7}>0,05$ | 51 | 0,21 | 90,7±6,1<br>$P_{1-7}>0,05$<br>$P_{3-7}<0,05$<br>$P_{6-7}<0,05$ | 42 | 0,26 | 2,28 |
| 8 | Paracetamol 500 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g 14 zile | 7 | 198,8±10,3<br>$P_{1-8}>0,05$<br>$P_{4-8}>0,05$<br>$P_{6-8}>0,05$ | 61 | 0,26 | 103,4±6,2<br>$P_{1-8}<0,05$<br>$P_{4-8}>0,05$<br>$P_{6-8}>0,05$ | 20 | 0,11 | 1,92 |
| 9 | Paracetamol 500 mg/kg + imupurin 50 mg/100g 14 zile | 7 | 183,3±11,9<br>$P_{1-9}>0,05$<br>$P_{5-9}<0,05$<br>$P_{6-9}>0,05$ | 78 | 0,37 | 86,3±4,7<br>$P_{1-9}>0,05$<br>$P_{5-9}<0,05$<br>$P_{6-9}<0,05$ | 49 | 0,33 | 2,13 |

Tratamentul cu imupurin a determinat cea mai marcată scădere a activităţii AsAT şi AlAT atât faţă de lotul de control la a 14-a zi, cât şi faţă de administrarea preparatului timp de 7 zile (tab.3.1.2.1). Raportul de Ritis rămânea practic la nivelul animalelor din loturile de control, determinat şi de tendinţa de normalizare a activităţii transaminazelor (AsAT era majorată de 1,12 ori, iar AlAT de 1,5 ori faţă de şobolanii din lotul intact).

Modificările înregistrate la tratamentul timp de 2 săptămâni cu preparatele entomologice a animalelor cu afecţiune hepatică, indusă prin paracetamol, s-au relevat prin valori importante ale IH şi CAH. Astfel, imupurinul a determinat un IH de 78% (faţă de AsAT) şi 49% (faţă de AlAT) şi un CAH de 0,37 şi 0,33 respectiv, iar entoheptinul şi imuheptinul manifestau o activitate hepatoprotectoare moderată (tab.3.1.2.1).

Analiza datelor obţinute ne permit să conclizionăm că la administrarea dozelor subletale de paracetamol se dezvoltă un sindrom moderat de citoliză (creşterea activităţii AsAT de 2 ori şi AlAT de 2,65 ori peste 7 zile) cu iniţierea proceselor reparative peste 14 zile. Preparatele entomologice provocau o diminuare mai accentuată a hiperfermentemiei, îndeosebi după 14 zile de folosire deşi nu se constată normalizarea completă a parametrilor studiaţi. E necesar de a menţiona că micşorarea activităţii AsAT şi AlAT după o săptămână de tratament era mai evidentă pentru imuheptin, iar după 14 zile la imupurin şi apoi entoheptin şi imuheptin. Totodată s-a relevat că preparatele cercetate în termenele precoce ale afecţiunii hepatice diminuau mai accentuat activitatea AlAT (ce denotă, posibil, despre influenţarea benefică a membranelor hepatocitelor), iar în cele tardive şi a AsAT (datorită amplificării funcţiilor regenerative ale hepatocitelor cu stabilizarea mebranelor organitelor intracelulare).

De rând cu determinarea activităţii transaminazelor în ser s-a studiat conţinutul acestora şi în ficat. Studiile experimentale au relevat că la modelarea afecţiunii hepatice prin administrarea intraperitoneală a unei doze unice de 500 mg/kg de paracetamol peste 7 zile în ficat se micşora nivelul AsAT de la 840,6 ± 58,6 până la 431,0± 79,5 U/l ($P<0,05$), iar a AlAT de la 353,4 ± 28,4 până la 232,0 + 19,1 U/l ($P<0,05$). Conţinutul transaminazelor în ficat la animalele netratate rămânea la acelaşi nivel şi după 14 zile (tab.3.1.2.2).

Tratamentul cu entoheptin timp de 7 zile, după modelarea afecţiunii hepatice, a contribuit la restabilirea nivelului AlAT fără modificări esenţiale celui al AsAT. În acelaşi timp, utilizarea produsului entomologic pe o durată de 2 săptămâni a contribuit la restabilirea, practic completă, a conţinutului transaminazelor în ficat (tab.3.1.2.2). Imuheptinul, folosit timp de 7 şi 14 zile, contribuia la refacerea completă a nivelului AlAT şi cu circa 50% celui a AsAT în ficat. Imupurinul, în condiţii similare, manifesta un efect de restabilire a conţinutului AlAT în termenele precoce şi tardive ale afecţiunii hepatice, în timp ce nivelul AsAT revenea aproape de cel al animalelor intacte doar peste 2 săptămâni de utilizare a preparatului entomologic. Datele obţinute sunt confirmate de IH şi CAH. Astfel, imuheptinul a manifestat o acţiune hepatoprotectoare mai înaltă după 7 zile de tratament (IH fiind de 46% pentru AsAT şi 181% pentru

AlAT, iar CAH – respectiv de 0,43 şi 0,92), în timp ce entoheptinul şi imupurinul au influenţat preponderent nivelul AlAT. La tratamentul timp de 2 săptămâni, acţiunea imuheptinului se menţinea stabilă, în timp ce cea a entoheptinului şi imupurinului devenea mai accentuată când IH şi CAH se majorau semnificativ (tab.3.1.2.2).

Studiile efectuate ne-au demonstrat că în afecţiunea hepatică, indusă prin paracetamol, există o corelaţie între majorarea activităţii în ser a AsAT şi AlAT şi diminuarea conţinutului transaminazelor în ficat. Tratamentul cu preparatele entomologice a contribuit la iniţierea proceselor reparative deja în termenele precoce ale leziunii hepatice (îndeosebi, imuheptinul) cu accelerarea lor în termenele tardive (îndeosebi pentru imupurin şi entoheptin), fapt relevat prin reducerea semnificativă a activităţii transaminazelor în ser cu majorarea conţinutului lor în ficat.

*Tabelul 3.1.2.2.*

**Modificarea conţinutului AlAT şi AsAT în ficat, indicelui de hepatoprotecţie (IH) şi coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) în afecţiunea hepatică prin paracetamol şi utilizarea preparatelor entomologice**

| Nr. d/o | Grupele de animale | Nr. de animale | AsAT U/L | IH (%) | CAH | AlAT U/L | IH (%) | CAH |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Lotul intact | 7 | 840,6± 58,6 | | | 353,4 ± 28,4 | | |
| 2 | Paracetamol 500 mg/kg unimomentan peste 7 zile | 7 | 431,0 +79,5<br>$P_{1-2} < 0,05$ | | | 232,0 ± 19,1<br>$P_{1-2} < 0,05$ | | |
| 3 | Paracetamol 500mg/kg +entoheptin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 459,0 ±98,4<br>$P_{1-3} < 0,05$<br>$P_{2-3} > 0,05$ | 7 | 0,06 | 452,0 ± 20,0<br>$P_{1-3} < 0,05$<br>$P_{2-3} < 0,001$ | 188 | 0,95 |
| 4 | Paracetamol 500 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 618,4 +86,1<br>$P_{1-4} > 0,05$<br>$P_{2-4} > 0,05$ | 46 | 0,43 | 445, 4 ± 22,0<br>$P_{1-4} > 0,05$<br>$P_{2-4} < 0,05$ | 181 | 0,92 |
| 5 | Paracetamol 500 mg/kg + imupurin 50 mg/100g 7 zile | 6 | 473,5± 83,7<br>$P_{1-5} < 0,05$<br>$P_{2-5} > 0,05$ | 11 | 0,1 | 415,4±43,5<br>$P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{2-5} < 0,05$ | 155 | 0,79 |
| 6 | Paracetamol 500 mg/kg unimomentan peste 14 zile | 7 | 430,4 ±60,6<br>$P_{1-6} < 0,05$<br>$P_{2-6} > 0,05$ | | | 236,4 ± 42,3<br>$P_{1-6} < 0,05$<br>$P_{2-6} > 0,05$ | | |
| 7 | Paracetamol 500 mg/kg +entoheptin 50 mg/100g 14 zile | 7 | 767,0 ±79,4<br>$P_{1-7} > 0,05$<br>$P_{6-7} < 0,05$ | 82 | 0,78 | 411,4 ± 49,2<br>$P_{1-7} > 0,05$<br>$P_{6-7} < 0,05$ | 150 | 0,74 |
| 8 | Paracetamol 500 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g 14 zile | 7 | 647,4±68,1<br>$P_{1-8} > 0,05$<br>$P_{6-8} < 0,05$ | 53 | 0,5 | 407,7+36,4<br>$P_{1-8} > 0,05$<br>$P_{6-8} < 0,05$ | 146 | 0,72 |
| 9 | Paracetamol 500 mg/kg + imupurin 50 mg/100g 14 zile | 7 | 780,7±58,0<br>$P_{1-9} > 0,05$<br>$P_{6-9} < 0,05$ | 76 | 0,81 | 370,4± 43,2<br>$P_{1-9} > 0,05$<br>$P_{6-9} > 0,05$ | 114 | 0,57 |

Analiza datelor relatate mai sus în contextul celor descrise în capitolul trei arată că dacă la administrarea dozei de 500 mg/kg paracetamol peste 24 ore se constata o majorare de 3 ori a activităţii AlAT şi de 1,8 ori a AsAT în ser, atunci peste 7 zile se depista o creştere de 2 şi 2,65 ori a transaminazelor respective. Astfel, putem remarca, că în primele 24 ore mai evident se deregleazâ integritatea membranelor hepatocitelor cu ieşirea fracţiilor citoplasmatice ale enzimelor (preponderent a AlAT), urmând ca ulterior peste 7 zile să se majoreze activitatea AsAT pe fundalul unei reduceri nesemnificative a AlAT. Posibil, în acest caz are loc o eliberare a fracţiei mitocondriale de AsAT din hepatocitele afectate sau de liza lor din focarele necrotice. Aceste procese, probabil, ating punctul maxim la finele primei săptămâni, deoarece după 14 zile activitatea transaminazelor, îndeosebi a AsAT, se micşorează, fapt ce denotă iniţierea proceselor reparative şi eliminarea hepatocitelor afectate. Datele respective sunt confirmate şi de evoluţia conţinutului transaminazelor în ficat. Preparatele entomologice prin aportul de substraturi plastice şi energetice (proteine, aminoacizi, lipide, glucide) contribuie la iniţierea proceselor reparative deja pe parcursul primei săptămâni de tratament, iar prin conţinutul de antioxidanţi hidrosolubili contribuie la stabilizarea permeabilităţii membranelor hepatocitelor şi anihilarea proceselor de peroxidare a lipidelor.

Datele din literatura de specialitate relevă că majorarea activităţii serice a AlAT şi AsAT este un parametru caracteristic afecţiunilor hepatice produse de xenobiotice, toxice şi medicamente, inclusiv paracetamol (Wei H.L., Liu G.T., 1997; Hajimehdipoar H. Et al., 2006; Kupeli Eet al., 2006; Shamal S. et al., 2006). Este necesar a menţiona că legitatea elucidată în ser avea un caracter opus în ficat, unde se constata o diminuare a nivelului AsAT şi AlAT (Wei H.L., Liu G.T., 1997, Hajimehdipoor H. Et al., 2006).

La administrarea paracetamolului în doză unică de 1 g/kg intern la a 7-a zi s-a constatat o majorare a activităţii AsAT (9,6 ori) şi AlAT (de 7,4 ori) ce denotă despre afectarea hepatocitelor şi micşorarea activităţii funcţionale a ficatului, confirmată prin dereglările morfologice (necroză masivă centrolobulară, disfuncţia hepatocitelor) şi majorarea masei ficatului (stază marcată în vase şi sinusoide, dilatarea şi edemul tractului portal, infiltrarea cu leucocite şi macrofage). Concomitent s-a determinat micşorarea raportului de Ritis (Вохминцева Л.В. т др., 2007).

Administrarea paracetamolului în doza de 500 mg/kg timp de 1-3 zile s-a soldat cu creşterea activităţii AsAT la a 4-a zi cu o tendinţă de diminuare la a 14-a zi. Silimarina în aceste condiţii nu influenţa activitatea AsAT după 4 zile de tratament, dar o reducea esenţial după 2 săptămâni de utilizare (Gopi K.S.et al., 2010).

În afecţiunea hepatică indusă prin paracetamol are loc creşterea activităţii transaminazelor şi coeficientului de Ritis datorită iniţierii POL şi eliberării calciului, ce deregleazâ funcţia de barieră a hepatocitelor, inclusiv a mitocondriilor, cu dezvoltarea sindromului citolitic cu ieşirea nu numai a fracţiilor citoplasmatice, ci şi mitocondriale ale transaminazelor (Коршунов Д.А., 2009).

La administrarea paracetamolului în doza de 2,5 g/kg timp de 2 zile la a 8-a zi s-a constatat o majorare a activităţii AlAT (7,6 ori) şi AsAT (5 ori) cu o micşorare a coeficientului de Ritis de la 1,3 la 0,9 (Мелентьева А.Н., 2007).

La şoricei paracetamolul în doza de 600 mg/kg intern a majorat activitatea AsAT şi AlAT deja peste 4 ore cu menţinerea ei şi peste 48 ore. În aceste condiţii N-acetilcisteina, seleniul şi, îndeosebi, asocierea lor, folosite după hepatotoxic, au micşorat activitatea transaminazelor deja peste 8 ore (Yalcin S. et al., 2008).

La modelarea afecţiunii hepatice prin paracetamol (2 g/kg intern) s-a determinat creşterea activităţii transaminazelor în ser. Tratamentul cu extractul alcoolic din propolis (conţine compuşi polifenolici) a manifestat efect protector prin restabilirea activităţii sistemului antioxidant (GSH, enzimelor antioxidante) şi diminuarea celui prooxidant (DAM), normalizarea conţinutului proteinelor, glicogenului şi colesterolului în ficat şi anihilarea dereglărilor histologice (Nirala S.K., Bhadauria M., 2008).

Paracetamolul în doză unică de 700 mg/kg intern a cauzat o majorare a activităţii transaminazelor fără modificarea esenţială a raportului AsAT/AlAT. Utilizarea cu scop curativ a preparatului prohepar (conţine aminoacizi esenţiali, oligopeptide, nucleotide, cisteină, mioinozitol, colină, cianocobalamină) a contribuit la diminuarea activităţii enzimelor citolitice, îndeosebi AsAT, cu ameliorarea tabloului morfologic (Демидов В.И. и др., 2011).

Grelina, o peptidă cu proprietăţi antiinflamatoare şi antioxidante, a manifestat efect protector, mai pronunţat ca NAC, în afecţiunea hepatică indusă de paracetamol prin diminuarea activităţii transaminazelor (Golestan J.M.et al., 2010).

Creşterea activităţii AsAT şi AlAT în ser este asociată cu o depleţie a GSH în ficat şi inhibarea ireversibilă a oxidării acizilor graşi cu acumularea trigliceridelor, acizilor graşi liberi şi acilcarnitinei în ser. Ultima se consideră un biomarker complementar pentru monitorizarea hepatotoxicităţii paracetamolului, determinată de bioactivarea analgezicului prin intermediul CYP 2E1 (Chen C.et al., 2009).

Majorarea activităţii transaminazelor în ser, indusă de paracetamol, corelează cu dezvoltarea stresului oxidativ relevat prin diminuarea statutului antioxidant (micşorarea nivelului GSH şi activităţii SOD, catalazei, GST, GPx) şi intensificarea proceselor POL (majorarea conţinutului hidroperoxizilor lipidici, DAM, CD, CT şi bazelor Shiff). În aceste condiţii preparatele vegetale şi sintetice cu acţiune antioxidantă manifestau efect protector prin preîntâmpinarea formării şi/sau captării speciilor reactive ale oxigenului, inhibării POL şi restabilirii activităţii sistemului antioxidant (Marotta E.et al., 2009, Yan S.L.et al., 2009, Rasool M.K.et al., 2010, Yousef M.I.et al., 2010, Ramachandram V., Raja B., 2011).

Activitatea LDH în ser la animalele din loturile de control, atât după 7, cât şi după 14 zile, nu suferea modificări esenţiale (tab.3.1.2.3). Tratamentul cu entoheptin şi imupurin timp de 7 zile, după injectarea unimomentană a dozei toxice de paracetamol, a determinat o majorare nesemnificativă a activităţii LDH în ser, în timp ce utilizarea imuheptinului a contribuit la o micşorare de la 1737,0± 168,6 până la 1615,3±129,6 U/l (P>0,05). Rezultatele obţinute au fost confirmate şi prin valori negative ale IH şi CAH pentru entoheptin şi imupurin sau nesemnificative pentru imuheptin.

Utilizarea entoheptinului, imuheptinului şi imupurinului pe parcursul a 14 zile a contribuit la o reducere esenţială a activităţii LDH faţă de tratamentul cu preparatele cercetate timp de 7 zile (tab.3.1.2.3). În aceste condiţii s-au depistat valori importante ale IH (92%, 93% şi 95%) şi moderate ale CAH (0,18; 0,19 şi 0,28). Probabil, efectele constatate sunt determinate de polimorfismul LDH (eritrocitare, miocardiale, hepatice), precum şi de perturbările metabolice ce au loc la acţiunea paracetamolului. Posibil, entoheptinul şi imupurinul induc o activitate mai mare a LDH prin necesitatea modificării raportului piruvatului şi lactatului pentru o funcţionare mai adecvată a hepatocitelor în condiţiile disbalanţei energetice şi metabolice în primele 7 zile de la acţiunea hepatotoxicului, urmând ca ulterior aceste momente să revină la valorile adecvate.

*Tabelul 3.1.2.3*

**Modificările activităţii LDH şi SDH în ser, indicelui de heptoprotecţie (IH) şi coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) în afecţiunea hepatică prin paracetamol şi utilizarea preparatelor entomologice**

| Nr. d/o | Grupele | Nr. de animale | LDH U/l | IH % | C A H | SDH nmol/s-l | IH % | C A H |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Lotul intact | 7 | 1710 +125,6 | | | 5 ,76+0,49 | | |
| 2 | Paracetamol 500 mg/kg unimomentan peste 7 zile | 6 | 1737,0+ 168,6<br>$P_{1-2}>0,05$ | | | 10,59+ 0,83<br>$P_{1-2}<0,001$ | | |
| 3 | Paracetamol 500mg/kg + entoheptin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 1941,0±101,7<br>$P_{1-3}>0,05$<br>$P_{2-3}>0,05$ | -12 | -0,11 | 6,8±0,53<br>$P_{1-3}>0,05$<br>$P_{2-3}<0,05$ | 79 | 0,56 |
| 4 | Paracetamol 500 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g 7 zile | 6 | 1615,3±129,6<br>$P_{1-4}>0,05$<br>$P_{2-4}>0,05$ | 7 | 0,07 | 7,83±0,81<br>$P_{1-4}>0,05$<br>$P_{2-4}>0,05$ | 57 | 0,35 |
| 5 | Paracetamol 500 mg/kg + imupurin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 1979,0±107,1<br>$P_{1-5}>0,05$<br>$P_{2-5}>0,05$ | -15 | -0,12 | 6,94±0,45<br>$P_{1-5}>0,05$<br>$P_{2-5}<0,05$ | 76 | 0,53 |
| 6 | Paracetamol 500 mg/kg unimomentan peste 14 zile | 6 | 1729,7±137,5<br>$P_{1-5}>0,05$<br>$P_{2-5}>0,05$ | | | 6,81+0,48<br>$P_{1-5}>0,05$<br>$P_{2-5}<0,05$ | | |
| 7 | Paracetamol 500 mg/kg + entoheptin 50 mg/100g 14 zile | 6 | 1470,2±176,8<br>$P_{1-7}>0,05$<br>$P_{3-7}<0,05$<br>$P_{6-7}<0,05$ | 92 | 0,18 | 6,0±0,4<br>$P_{1-7}>0,05$<br>$P_{3-7}>0,05$<br>$P_{6-7}>0,05$ | 78 | 0,13 |
| 8 | Paracetamol 500 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g 14 zile | 7 | 1451,8+104,4<br>$P_{1-8}>0,05$<br>$P_{4-8}>0,05$<br>$P_{6-8}>0,05$ | 93 | 0,19 | 6,25+0,61<br>$P_{1-8}>0,05$<br>$P_{4-8}>0,05$<br>$P_{6-8}>0,05$ | 54 | 0,09 |
| 9 | Paracetamol 500 mg/kg + imupurin 50 mg/100g 14 zile | 7 | 1351,8±181,3<br>$P_{1-9}>0,05$<br>$P_{5-9}<0,05$<br>$P_{6-9}>0,05$ | 95 | 0,28 | 5,78±0,49<br>$P_{1-9}>0,05$<br>$P_{5-9}>0,05$<br>$P_{6-9}>0,05$ | 98 | 0,18 |

Lactatdehidrogenaza, ca o enzimă citoplasmatică, concomitent cu transaminazele, reprezintă un indicator al integrităţii hepatocitelor şi se poate constata o corelaţie între activitatea în sânge şi conţinutul ei în ficat. În cazul modelării leziunii hepatice prin paracetamol, la a 7-a zi s-a relevat o diminuare a nivelului LDH în ficat de la 3931 ± 159 la 3379 ± 218 U/L ($P > 0,05$). La animalele netratate parametrul studiat rămânea practic la acelaşi nivel şi peste 2 săptămâni (tab.3.1.2.4). Concomitent, în ser, după cum s-a remarcat mai sus, se constanta o tendinţă de majorare a LDH. Modificări similare ale conţinutului în sânge au fost raportate şi de Bhattacharjee R., Sil P. (2006), Kikkawa R. şi coaut. (2005).

*Tabelul 3.1.2.4.*

**Modificarea conţinutul LDH în ficat, indicelui de heptoprotecţie (IH) şi coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) în afecţiunea hepatică prin paracetamol şi utilizarea preparatelor entomologice**

| Nr. d/o | Grupele de animale | Nr. de animale | LDH U/l | IH (%) | CAH |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Lotul intact | 7 | 3931 ± 159 | | |
| 2 | Paracetamol 500 mg/kg unimomentan peste 7 zile | 7 | 3379 ± 218<br>$P_{1-2} > 0,05$ | | |
| 3 | Paracetamol 500mg/kg +entoheptin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 3422 ± 289<br>$P_{1-3} > 0,05$<br>$P_{2-3} > 0,05$ | 8 | 0,01 |
| 4 | Paracetamol 500 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 3703 ± 298<br>$P_{1-4} > 0,05$<br>$P_{2-4} > 0,05$ | 59 | 0,1 |
| 5 | Paracetamol 500 mg/kg + imupurin 50 mg/100g 7 zile | 6 | 3549± 326<br>$P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{2-5} > 0,05$ | 30 | 0,05 |
| 6 | Paracetamol 500 mg/kg unimomentan peste 14 zile | 7 | 3119 ± 331<br>$P_{1-6} > 0,05$<br>$P_{2-6} > 0,05$ | | |
| 7 | Paracetamol 500 mg/kg +entoheptin 50 mg/100g 14 zile | 7 | 3871 + 161<br>$P_{1-7} > 0,05$<br>$P_{6-7} < 0,05$<br>$P_{3-7} > 0,05$ | 93 | 0,24 |
| 8 | Paracetamol 500 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g 14 zile | 7 | 3895 ± 291<br>$P_{1-8} > 0,05$<br>$P_{6-8} > 0,05$<br>$P_{4-8} > 0,05$ | 96 | 0,25 |
| 9 | Paracetamol 500 mg/kg + imupurin 50 mg/100g 14 zile | 7 | 3717 ± 326<br>$P_{1-9} > 0,05$<br>$P_{6-9} > 0,05$<br>$P_{5-9} > 0,05$ | 70 | 0,19 |

Utilizarea din I-a zi a preparatelor entomologice timp de 7 zile s-a soldat cu o tendinţă de restabilire a conţinutului LDH în ficat, care era mai evidentă la imuheptin, relevată printr-un IH de 59% (tab.3.1.2.4). Imuheptinul, entoheptinul şi imupurinul, la folosirea timp de 2 săptămâni după injectarea hepatotoxicului, au contribuit practic la normalizarea nivelului LDH în ficat, remarcată şi prin diminuarea activităţii enzimei respective şi în ser. Efectul benefic al preparatelor entomologice s-a manifestat şi prin creşterea importantă a IH şi CAH (tab.3.1.2.4).

Sorbitol dehidrogenaza (SDH) reprezintă o enzimă oxidativă, citoplasmatică prezentă preponderent la nivelul ficatului. Majorarea activităţii acesteia în ser este caracteristică pentru leziunile acute ale ficatului şi este comparabilă cu modificările activităţii transaminazelor. Totuşi sensibilitatea este mai mică decât a AsAT şi AlAT (Grigorescu T., 2004).

La administrarea dozelor toxice de paracetamol peste 7 zile s-a constatat o creştere a activităţii SDH în ser de la 5,76 ± 0,49 până la 10,59 ± 0,83 nmol/s-l ($P<0,001$). Utilizarea pe parcursul a unei săptămâni a preparatelor entomologice a contribuit la reducerea activităţii SDH în comparaţie cu hepatotoxicul de la 10,59± 0,83 respectiv până la 6,8±0,53 nmol/s-l la entoheptin ($P<0,05$), 7,83±0,81 nmol/s-l – imuheptin ($P>0,05$) şi 6,94±0,45 nmol/s-l ($P<0,05$) – imupurin. În aceste condiţii, preparatele entomologice au manifestat acţiune hepatoprotectoare relevată prin IH şi CAH (tab.3.1.2.3).

Activitatea SDH peste 14 zile la animalele netratate se reducea semnificativ în comparaţie cu cele după 7 zile, dar nu se normaliza. Tratamentul timp de 2 săptămâni cu preparatele entomologice a contribuit practic la normalizarea activităţii SDH în ser, reflectată şi prin IH (tab.3.1.2.3).

Rezultatele obţinute denotă o corelaţie între activitatea transaminazelor şi SDH în ser la şobolanii din loturile de control şi cei trataţi cu entoheptin, imuheptin şi imupurin, care este dependentă de durata utilizării preparatelor. Rezultatele obţinute permit să consluzionăm că preparatele entomologice au ameliorat esenţial evoluţia sindromului de citoliză (diminuarea activităţii AsAT, AlAT, SDH şi LDH în ser cu majorarea nivelului AsAT, AlAT şi LDH în ficat), demonstrând o activitate hepatoprotectoare (creşterea IH şi CAH).

Analiza datelor din literatură a arătat că paracetamolul, administrat la şoricei în doza de 350 şi 500 mg/kg intraperitoneal, a cauzat o majorare a activităţii SDH în ser cu modificări histologice caracteristice (Dai G.et al., 2005, 2006, Yim H.K.et al., 2006). Acest efect al analgezicului a fost diminuat la utilizarea cu 24 ore înainte a tetraclorurii de carbon prin reducerea în plasmă a metaboliţilor paracetamol-cisteină şi paracetamol-mercapturat, dar cu majorarea paracetamol-glucuronid şi paracetamol-sulfat. Respectiv a crescut eliminarea prin urină a paracetamol-glucuronidului şi paracetamol-sulfatului cu reducerea metaboliţilor paracetamol-cisteină şi paracetamol-mercapturat. Astfel, datorită inhibării CYP 2E1 şi 1A2 s-a diminuat metabolizarea oxidativă a acetaminofenului cu amplificarea proceselor de conjugare (Yim H.Ket al., 2006).

La modelarea afecţiunii hepatice la şobolani prin paracetamol (1 g/kg ) s-au depistat modificări morfologice caracteristice relevate şi cu o majorare a activităţii SDH în plasmă (Silva V.M.et al., 2005).

Fosfataza alcalină (FAl) şi γ-glutamiltranspeptidaza (GGTP) se consideră preponderent enzime organospecifice, care se formează în hepatocite şi canaliculele biliare şi se excretă prin bilă, iar determinarea activităţii lor în ser poate servi ca indicator al sindromului de colestază.

Fosfataza alcalină sub formă de diferite izoenzime este prezentă în ficat, oase, intestin, placentă, rinichi şi leucocite. În condiţii fiziologice, FAl circulantă este, de regulă, de origine hepatică şi osoasă. Fosfataza alcalină a fost detectată preponderent în membrana plasmatică, precum şi în membranele organitelor intracelulare (aparatul Golgi, reticulul endoplasmatic, nucleu). Enzima hepatică este asociată membranelor sinusoidale şi canaliculare, însă este prezentă şi în citosol şi se secretă în cantitate mare în bilă. Fosfataza alcalină hepatică este implicată în reglarea activităţii secretorii a epiteliului biliar, în detoxifierea endotoxinelor (acţiune similară ATP-azelor) şi, posibil, în absorbţia şi transportul lipidelor. Majorarea nivelelor serice ale FAl este de cele mai multe ori de origine hepatică determinată de colestaza (obstrucţia căilor biliare) atât intra-, cât şi extrahepatică. Mecanismul principal de creştere a FAl se reduce la inducerea sintezei enzimei prin concentraţia majorată de acizi biliari şi, mai rar, prin insuficienţa de epurare sau de eliminare din circulaţie. Nivelul crescut al enzimei se poate menţine şi după înlăturarea obstrucţiei biliare datorită timpului de înjumătăţire de circa 7 zile al enzimei (Grigorescu T., 2004).

Administrarea intraperitoneală a dozei toxice de 500 mg/kg de paracetamol s-a soldat peste 7 zile cu majorarea semnificativă a activităţii FAl în ser (tab.3.1.2.5). Utilizarea pe parcursul a 7 zile a entoheptinului pe fundalul hepatotoxicului a contribuit la micşorarea semnificativă a activităţii FAl de la 295,0±30,2 până la 142,6±22,4 nmol/s-l ($P<0,05$). Efectul preparatului a fost determinat şi de un IH (85%) şi CAH (1,07) important. În condiţii similare, imuheptinul şi imupurinul au diminuat nesemnificativ activitatea FAl în ser, fapt relevat şi prin valorile IH şi CAH (tab.3.1.2.5).

Dozele toxice de analgezic au determinat menţinerea nivelului crescut al FAl în ser şi peste 2 săptămâni. Tratamentul timp de 14 zile cu entoheptin a redus activitatea Fal în ser în comparaţie cu animalele netratate, dar n-a influenţat activitatea enzimei în raport cu utlizarea preparatului timp de 7 zile. În aceste condiţii IH şi CAH au constituit 67% şi 0,61 respectiv. Utilizarea imuheptinului pe parcursul a 2 săptămâni a contribuit la diminuarea neesenţială a activităţii FAl în ser în comparaţie cu animalele din lotul netratat şi cel ce li s-a administrat preparatul timp de 7 zile, date confirmate şi prin IH şi CAH. Imupurinul, la tratamentul timp de 14 zile, n-a influenţat creşterea activităţii FAl indusă de hepatotoxic (tab.3.1.2.5).

Rezultatele obţinute denotă că entoheptinul a diminuat semnificativ, iar imuheptinul neesenţial, creşterea activităţii FAl, cauzată de dozele toxice ale paracetamolului, la tratamentul timp de 7 şi 14 zile, în timp ce imupurinul a anihilat parţial efectul hepatotoxicului în termenele precoce ale afecţiuinii hepatice.

*Tabelul 3.1.2.5*

**Modificările activităţii FAl şi GGTP în ser, indicelui de heptoprotecţie (IH) şi coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) în afecţiunea hepatică prin paracetamol şi utilizarea preparatelor entomologice**

| Nr. d/o | Grupele | Nr. de animale | FAl nmol/s-l | IH % | CAH | GGTP nmol/s-l | IH % | CAH |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Lotul intact | 7 | 114,1±11,2 | | | 3,86+0,51 | | |
| 2 | Paracetamol 500 mg/kg unimomentan peste 7 zile | 6 | 295,0+30,2<br>$P_{1-2}$<0,001 | | | 7,11± 0,54<br>$P_{1-2}$<0,05 | | |
| 3 | Paracetamol 500mg/kg +entoheptin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 142,6±22,4<br>$P_{1-3}$>0,05<br>$P_{2-3}$<0,05 | 85 | 1,07 | 5,06±0,45<br>$P_{1-3}$>0,05<br>$P_{2-3}$>0,05 | 63 | 0,4 |
| 4 | Paracetamol 500 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g 7 zile | 6 | 279,2±36,4<br>$P_{1-4}$<0,001<br>$P_{2-4}$>0,05 | 9 | 0,06 | 4,79±0,33<br>$P_{1-4}$>0,05<br>$P_{2-4}$<0,05 | 72 | 0,48 |
| 5 | Paracetamol 500 mg/kg + imupurin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 235,6+12,0<br>$P_{1-5}$<0,001<br>$P_{2-5}$>0,05 | 33 | 0,25 | 5,03±0,43<br>$P_{1-5}$>0,05<br>$P_{2-5}$>0,05 | 64 | 0,41 |
| 6 | Paracetamol 500 mg/kg unimomentan peste 14 zile | 6 | 262,2±15,6<br>$P_{1-6}$<0,001<br>$P_{2-6}$>0,05 | | | 5,55±0,43<br>$P_{1-5}$>0,05<br>$P_{2-5}$>0,05 | | |
| 7 | Paracetamol 500 mg/kg +entoheptin 50 mg/100g 14 zile | 6 | 163,0±34,8<br>$P_{1-7}$>0,05<br>$P_{3-7}$<0,05<br>$P_{6-7}$>0,05 | 67 | 0,61 | 4,86±0,32<br>$P_{1-7}$>0,05<br>$P_{3-7}$>0,05<br>$P_{6-7}$>0,05 | 40 | 0,14 |
| 8 | Paracetamol 500 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g 14 zile | 7 | 236,6±19,1<br>$P_{1-8}$<0,05<br>$P_{4-8}$>0,05<br>$P_{6-8}$>0,05 | 16 | 0,11 | 4,8+0,34<br>$P_{1-8}$>0,05<br>$P_{4-8}$>0,05<br>$P_{6-8}$>0,05 | 45 | 0,16 |
| 9 | Paracetamol 500 mg/kg + imupurin 50 mg/100g 14 zile | 7 | 263,4+18,0<br>$P_{1-9}$<0,001<br>$P_{5-9}$>0,05<br>$P_{6-9}$>0,05 | 0 | -0,01 | 4,97±0,27<br>$P_{1-9}$>0,05<br>$P_{5-9}$>0,05<br>$P_{6-9}$>0,05 | 35 | 0,12 |

Doza toxică de paracetamol a provocat o majorare a activităţii GGTP în ser de la 3,86±0,51 până la 7,11± 0,54 nmol/s-l (P<0,05). Tratamentul afecţiunii hepatice timp de 7 zile cu entoheptin, imuheptin şi imupurin s-a soldat cu micşorarea activităţii GGTP de la 7,11± 0,54 (lotul de control) respectiv până la 5,06±0,45, 4,79±0,33 şi 5,03±0,43 nmol/s-l (P<0,05). Aceasta a determinat valori importante ale IH şi CAH (tab.3.1.2.5).

Administrarea hepatotoxicului în doză unică a determinat peste 14 zile o creştere nesemnificativă faţă de animalele intacte a activităţii GGTP în ser, dar o reducere cu 78% faţă de lotul de control la a 7-a zi. Tratamentul cu preparatele entomologice a diminuat neesenţial activitatea enzimei faţă de animalele din lotul de control, dar nu a atins cifrele celor din lotul intact, fapt confirmat şi prin valori modeste ale IH şi CAH (tab.3.1.2.5).

Analiza rezultatelor obţinute şi celor relatate în capitolul 3.1.1 permit să conchidem că în afecţiunea hepatică, indusă prin paracetamol, în primele 24 ore se dezvoltă un sindrom minor de colestază, care devine manifest la a 7-a zi cu diminuare către a 14-a zi. Entoheptinul a manifestat atât efect profilactic, cât şi curativ în vederea reducerii sindromului de colestază. Imuheptinul a demonstrat o acţiune profilactică importantă şi curativă slabă faţă de colestaza indusă de analgezic. Imupurinul s-a dovedit benefic în preîntâmpinarea dezvoltării colestazei cu o acţiune curativă modestă în termenele precoce şi slabă în cele tardive (micşorarea doar a GGTP) ale afecţiunii hepatice.

Pentru o interpretare mai amplă a sindromului de colestză s-a recurs la determinarea nivelului FAl şi GGTP în ficat. Studiul conţinutului FAl în ficat ne-a relevat o diminuare a acestuia de la 18,0 + 0,9 până la 17,6±0,2 peste 7 zile şi 17,1±0,5 nmol/s-g (P> 0,05) peste 14 zile după modelarea afecţiunii toxice a ficatului prin paracetamol. Date similare au fost raportate şi de Hajimehdipoar H. şi coaut.(2006).

Utilizarea entoheptinului timp de o săptămână a contribuit la creşterea nivelului FAl în ficat în comparaţie cu lotul de control de la 17,6±0,2 până la 19,3±0,4 nmol/s-g. (P<0,05). Tratamentul cu imuheptin şi imupurin timp de 7 zile s-a soldat cu menţinerea conţinutului FAl în ficat la nivelul animaleleor intacte. Entoheptinul, la folosirea timp de 2 săptămâni, a restabilit conţinutul FA în ficat de la 17,1 ±0,5 până la 18,1 ±1,7 (P> 0,05). Efect similar a manifestat imupurinul, mai puţin imuheptinul. Efectele preparatelor entomologice au fost puse în evidenţă şi prin IH şi CAH (tab.3.1.2.6).

Conţinutul GGTP în ficat, la modelarea afecţiunii toxice a ficatului prin paracetamol, s-a micşorat de la 9,4±0,3 până la 6,1±0,3 nmol/s-g. (P>0,05) peste 7 zile şi 6,8±0,3 nmol/s-g. (P>0,05) peste 14 zile, date ce corelau cu maximul activităţii GGTP la a 7-a zi cu o tendinţă de diminuare la a 14-a zi. Modificări similare au relatat Kikkawa R. şi coaut., (2005); Bhattacharjee R., Sil P., (2006).

Tratamentul cu entoheptin timp de o săptămână a contribuit la majorarea nivelului GGTP în ficat de la 6,1±0,3 până la 7,1±0,5 nmol/s-g. (P>0,05) care corela cu diminuarea activităţii enzimei în ser. Acest efect al preparatului a devenit mai relevant după 2 săptămâni de tratament. Utilizarea imuheptinului şi imupurinului s-a soldat cu o tendinţă de majorare a GGTP în ficat la a 7-a zi, dar care devenea mai semnificativă la a 14-a zi. Acţiunea respectivă a preparatelor entomologice se asocia cu diminuarea activităţii GGTP în ser. Astfel, tratamentul timp de 2 săptămâni cu preparatele cercetate, îndeosebi cu entoheptin, s-a soldat cu o combatere a colestazei, induse de paracetamol, date confirmate prin IH şi CAH (tab.3.1.2.6).

Analiza datelor dinamicii activităţii FAl şi GGTP în ser şi a conţinutului lor în ficat permit să concluzionăm că preparatele entomologice ameliorează manifestările sindromului de colestază (îndeosebi prin evoluţia GGTP). Entoheptinul s-a dovedit cel mai efectiv datorită modificării atât a activităţii şi nivelului FAl, cât şi GGTP, iar imuheptinul şi imupurinul au anihilat colestaza preponderent prin modificarea activităţii şi conţinutului GGTP.

Cercetările experimentale au remarcat în ser o creştere semnificativă sau mai puţin esenţială a nivelului FAl (Handa S.S., Sharma A., 1990; O'Brien P.J. şi coaut., 2002; Battacharjee R., Sil P.C., 2006; Hajimehdipoor H. şi coaut., 2006). Putem conchide că există o corelare între conţinutul FAl în ser şi ficat.

Acţiunea hepatotoxică a medicamentelor, inclusiv a paracetamolului, se caracterizează şi prin alterarea proceselor metabolice şi sintetice, cu instalarea insuficienţei hepatocelulare. În acest context a prezentat interes determinarea unor parametri metabolici (glucoza, colesterolul total, proteinele totale etc.) la şobolanii cu afecţiune hepatică indusă prin paracetamol.

*Tabelul 3.1.2.6*

**Modificarea conţinutul FAl şi GGTP în ficat, indicelui de heptoprotecţie (IH) şi coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) în afecţiunea hepatică prin paracetamol şi utilizarea preparatelor entomologice**

| Nr. d/o | Grupele de animale | Nr. de animale | FAl nmol/s-g. | IH % | CAH | GGTP nmol/s-g. | IH % | CAH |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Lotul intact | 7 | 18,0 ± 0,9 | | | 9,4 ±1,3 | | |
| 2 | Paracetamol 500 mg/kg unimomentan peste 7 zile | 7 | 17,6 + 0,2<br>$P_{1-2} > 0,05$ | | | 6,1 ± 0,3<br>$P_{1-2} > 0,05$ | | |
| 3 | Paracetamol 500mg/kg +entoheptin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 19,3 ± 0,4<br>$P_{1-4} > 0,05$<br>$P_{2-4} < 0,05$ | 69 | 0,1 | 7,1 + 0,5<br>$P_{1-3} > 0,05$<br>$P_{2-3} > 0,05$ | 30 | 0,16 |
| 4 | Paracetamol 500 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 18,1+ 2,4<br>$P_{1-6} > 0,05$<br>$P_{2-6} > 0,05$ | 75 | 0,03 | 6,4 ± 0,3<br>$P_{1-4} > 0,05$<br>$P_{2-4} > 0,05$ | 10 | 0,05 |
| 5 | Paracetamol 500 mg/kg + imupurin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 18,4 ±1,4<br>$P_{1-8} > 0,05$<br>$P_{2-8} > 0,05$ | 100 | 0,04 | 6,3 ± 0,5<br>$P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{2-5} > 0,05$ | 7 | 0,03 |
| 6 | Paracetamol 500 mg/kg unimomentan peste 14 zile | 7 | 17,1 + 0,5<br>$P_{1-3} > 0,05$ | | | 6,8 ± 0,3<br>$P_{1-6} > 0,05$ | | |
| 7 | Paracetamol 500 mg/kg +entoheptin 50 mg/100g 14 zile | 7 | 18,1 + 0,5<br>$P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{3-5} > 0,05$ | 90 | 0,06 | 8,6 ± 0,6<br>$P_{1-7} > 0,05$<br>$P_{6-7} < 0,05$ | 69 | 0,26 |
| 8 | Paracetamol 500 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g 14 zile | 7 | 17,4 ± 1,7<br>$P_{1-7} > 0,05$<br>$P_{3-7} > 0,05$ | 34 | 0,02 | 8,1 ± 1,0<br>$P_{1-8} > 0,05$<br>$P_{6-8} > 0,05$ | 50 | 0,19 |
| 9 | Paracetamol 500 mg/kg + imupurin 50 mg/100g 14 zile | 7 | 18,5 + 1,3<br>$P_{1-9} > 0,05$<br>$P_{3-9} > 0,05$ | 155 | 0,08 | 8,2 ± 0,6<br>$P_{1-9} > 0,05$<br>$P_{6-9} > 0,05$ | 54 | 0,2 |

Administrarea intraperitoneală unimomentană a paracetamolului în doza de 500 mg/kg peste 7 zile a determinat o tendinţă de majorare a nivelului glucozei de la 5,37±0,24 până la 5,67±0,18 mmol/l (P>0,05), iar peste 14 zile de micşorare de la 5,37±0,24 până la la 5,15±0,21 mmol/l ( P>0,05).

Tratamentul cu entoheptin timp de o săptămână a contribuit la o majorare nesemnificativă a glicemiei atât faţă de animalele intacte, cât şi faţă de cele din lotul de control. Administrarea preparatului timp de 2 săptămâni a determinat menţinerea unui nivel optim al glucozei în sânge (tab.3.1.2.7). Utilizarea imuheptinului şi imupurinului timp de 7 zile s-a soldat practic cu menţinerea glicemiei la nivelul animalelor intacte, iar la administrarea timp de 14 zile au anihilat hipoglicemia minoră, indusă de hepatotoxic. Datele relatate au fost confirmate prin modificări neesenţiale ale CAH (tab. 3.1.2.7).

*Tabelul 3.1.2.7*

**Modificările conţinutului glucozei şi colesterolului în sânge, coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) în afecţiunea hepatică prin paracetamol şi utilizarea preparatelor entomologice**

| Nr. d/o | Grupele | Nr. de animale | Glucoza, mmol/l | CAH | Colesterolul total, mmol/l | CAH |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Lotul intact | 7 | 5,37±0,24 | | 2,16±0,08 | |
| 2 | Paracetamol 500 mg/kg unimomentan peste 7 zile | 6 | 5,67+0,18<br>$P_{1-2}>0,05$ | | 2,53 ± 0,28<br>$P_{1-2}>0,05$ | |
| 3 | Paracetamol 500mg/kg + entoheptin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 6,16+0,35<br>$P_{1-3}>0,05$<br>$P_{2-3}>0,05$ | 0,09 | 2,17+0,28<br>$P_{1-3}>0,05$<br>$P_{2-3}>0,05$ | 0,17 |
| 4 | Paracetamol 500 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g 7 zile | 6 | 5,29±0,27<br>$P_{1-4}>0,05$<br>$P_{2-4}>0,05$ | -0,07 | 2,52±0,25<br>$P_{1-4}>0.05$<br>$P_{2-4}>0,05$ | 0 |
| 5 | Paracetamol 500 mg/kg + imupurin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 5,38±0,35<br>$P_{1-5}>0,05$<br>$P_{2-5}>0,05$ | -0,05 | 2,19+0,17<br>$P_{1-5}>0,05$<br>$P_{2-5}>0,05$ | 0,15 |
| 6 | Paracetamol 500 mg/kg unimomentan peste 14 zile | 6 | 5,15±0,21<br>$P_{1-6}>0,05$<br>$P_{2-6}>0,05$ | | 2,32±0,12<br>$P_{1-5}>0,05$<br>$P_{2-5}>0,05$ | |
| 7 | Paracetamol 500 mg/kg + entoheptin 50 mg/100g 14 zile | 6 | 5,82+0,29<br>$P_{1-7}>0,05$<br>$P_{3-7}>0,05$<br>$P_{6-7}>0,05$ | 0,13 | 2,18±0,28<br>$P_{1-7}>0,05$<br>$P_{3-7}>0,05$<br>$P_{6-7}>0,05$ | 0,06 |
| 8 | Paracetamol 500 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g 14 zile | 7 | 5,44±0,24<br>$P_{1-8}>0.05$<br>$P_{4-8}>0,05$<br>$P_{6-8}>0,05$ | 0,06 | 2,43+0,18<br>$P_{1-8}>0,05$<br>$P_{4-8}>0,05$<br>$P_{6-8}>0,05$ | -0,08 |
| 9 | Paracetamol 500 mg/kg + imupurin 50 mg/100g 14 zile | 7 | 5,68±0,21<br>$P_{1-9}>0,05$<br>$P_{5-9}>0,05$<br>$P_{6-9}>0,05$ | 0,1 | 2,39±0,17<br>$P_{1-9}>0,05$<br>$P_{5-9}>0.05$<br>$P_{6-9}>0,05$ | -0,03 |

Astfel, dozele toxice de paracetamol, în afecţiuni hepatice acute, nu provoacă modificări esenţiale ale glicemiei. E necesar de menţionat că peste 24 ore hepatotoxicul reduce nesemnificativ nivelul glucozei cu o creştere neveridică la a 7-a zi şi o diminuare neesenţială la a 14-a zi. Posibil, aceste oscilaţii reflectă starea metabolică a ficatului, determinată de o insuficienţă a substratului energetic în primele 24 ore cu o creştere a producerii şi o reducere a capacităţii de utilizare a glucozei pe parcursul a 7 zile, urmată de o intensificare a utilizării ei în termenele tardive, când se iniţiază procesele reparative. Preparatele entomologice, în termenele menţionate, manifestau un efect opus hepatotoxicului faţă de nivelul glicemiei. Posibil, în aceste condiţii preparatele cercetate au contribuit la ameliorarea necesităţilor energetice ale hepatocitelor, fapt relevat şi prin dinamica pozitivă a sindromului de citoliză şi colestază.

Studiile experimentale au demonstrat că la administrarea paracetamolului în doza de 2,5 g/kg intern timp de 2 zile la şobolani la a 8-a zi se constata o micşorare a nivelului glucozei în sânge (Соколовская А.Н., 2006, Мелентьева А.Н., 2007). Hipoglicemia, indusă de paracetamol, se consideră un indice nefavorabil la pacienţii cu supradozarea analgezicului (Mahadevan S.B.K., 2006). În intoxicaţia cu acetaminofen se determină dereglări importante ale hepatocitelor, relevate prin steatoza microveziculară şi hipoglicemie marcată, ca urmare a inhibării oxidării acizilor graşi cu dezvoltarea insuficienţei hepatice (Begrichke K.et al., 2011).

Administrarea intraperitoneală unimomentană a paracetamolului în doza de 500 mg/kg a determinat o majorare a nivelului colesterolului total în sânge peste 7 zile de la 2,16±0,08 până la 2,53±0,28 mmol/l (P>0,05), iar peste 14 zile de la 2,16+0,08 până la 2,32±0,12 mmol/l (P>0,05). Tratamentul timp de o săptămână cu entoheptin şi imupurin a menţinut nivelul colesterolului în limitele animalelor intacte, diminuând astfel hipercolesterolemia indusă de hepatotoxic. Utilizarea imuheptinului timp de 7 zile nu a modificat conţinutul colesterolului total faţă de lotul de control (2,52±0,25 faţă de 2,53±0,28 mmol/l; P>0,05). Entoheptinul a redus colesterolemia moderată, indusă de paracetamol, şi după 2 săptămâni de tratament, iar imuheptinul şi imupurinul nu influenţau modificarea nivelului colesterolului total. Datele relatate au fost confirmate şi prin CAH (tab.3.1.2.7).

Studiile experimentale au demonstrat că paracetamolul provoacă dereglări importante ale metabolismului lipidic. Astfel, la administrarea analgezicului în doza de 2,5 g/kg timp de 2 zile intern s-s determinat majorarea nivelului lipidelor totale (Соколовская А.Н., 2006, Мелентьева А.Н., 2007), iar în doza de 3 g/kg 2 zile – creşterea conţinutului colesterolului total şi colesterolului LDL cu o micşorare a colesterolului HDL (Oyagbemi A.A., Odetala A.A., 2010).

Administrarea paracetamolului în doza de 500 mg/kg timp de 1-3 zile a cauzat o majorare a concentraţiei colesterolului şi trigliceridelor la a 4-a zi, care rămânea practic la acelaşi nivel (cu o tendinţă uşoară de micşorare) la a 14-a zi. Silimarina nu influenţa conţinutul colesterolului total şi trigliceridelor după 4 zile, urmând să-l reducă semnificativ după 14 zile de utilizare (Gopi K.S.et al., 2010).

Intoxicaţia cu paracetamol este urmată de o citoliză de diferit grad şi steatoză (micro şi/sau macroveziculară). Dereglările metabolismului lipidic pot fi determinate de micşorarea beta-oxidării acizilor graşi, creşterea sintezei lipidelor şi diminuarea secreţiei VLDL şi trigliceridelor (Begrichke K.et al., 2011).

Injectarea intraperitoneală a paracetamolului în doză unică de 500 mg/kg a determinat peste 7 zile o hiperproteinemie, care urma să revină practic la nivelul animalelor intacte peste 14 zile (tab.3.1.2.8). Tratamentul cu entoheptin şi imupurin timp de o săptămână în dozele de 50 mg/100g menţinea conţinutul proteinelor totale practic la nivelul animalelor intacte, iar cel cu imuheptin nu influenţa hiperproteinemia indusă de acţiunea hepatotoxicului (tab. 3.1.2.8). Imuheptinul şi imupurinul după 2 săptămâni de utilizare în dozele de 50 mg/100g, de asemenea, nu modificau proteinemia faţă de lotul intact şi cel de control. Entoheptinul, în condiţii similare, a majorat conţinutul proteinelor totale de la 70,7±1,4 până la 74,8±2,9 g/l (P>0,05). Astfel, hiperproteinemia, produsă de paracetamol, era anihilată la tratamentul timp de 7 zile cu entoheptin şi imuheptin. Modificările neesenţiale ale nivelului proteinelor totale în termenele tardive ale afecţiuni hepatice erau confirmate prin CAII.

Paracetamolul în doza de 640 mg/kg intern peste 72 ore a determinat majorarea nivelului proteinelor totale cu micşorarea celui al albuminelor şi coeficientului albuimine/globuline. Se consideră că în acest caz în ficat are loc micşorarea sintezei albuminelor cu o intensificare a sintezei globulinelor ca rezultat al dezvoltării procesului inflamator cu eliberarea de către celulele Kupffer şi entodeliale a mediatorilor inflamaţiei şi speciilor reactive ale oxigenului ce contribuie la afectarea ficatului (Al-Sowyan N.S., 2009).

Administrarea paracetamolului în doza de 2,5 şi 3 g/kg 2 zile a contribuit la diminuarea nivelului proteinelor totale la a 8-a zi (Oyagbemi A.A., Odetala A.A., 2010, Соколовская А.Н., 2006, Мелентьева А.П., 2007, Коршунов Д.А., 2009). Concomitent s-a determinat reducerea concentraţiei ureei cu majorarea celui a amoniacului. Se consideră că în afecţiunea toxică, indusă de analgezic, este dereglată includerea amoniacului în uree.

Cvercetina a anihilat capacitatea paracetamolului în doze toxice de a micşora nivelul proteinelor totale şi de al creşte pe cel al ureei şi creatininei (Yousef M.I.et al., 2010).

În afecţiunea hepatică indusă prin paracetamol (500 mg/kg timp de 1-3 zile) s-a constatat la a 4–a zi majorarea nivelului ureei (1,5 ori) şi creatininei (2 ori) cu o tendinţă nesemnificativă de micşorare la a 14 –a zi (Gopi K.S.et al., 2010). Autorii consideră că aceste efecte sunt cauzate de intensificarea catabolismului proteinelor prin formarea sub influenţa citocromului P-450 a metabolitului NAPQI şi cuplarea acestuia cu macromoleculele celulare. Silimarina în aceste condiţii a manifestat efecte benefice datorită efectului antioxidant cu captarea radicalilor liberi.

Paracetamolul în doza de 1000 mg/kg a cauzat o micşorare cu 15% a concentraţiei proteinelor totale (Вохминцева Л.В. и др., 2007).

*Tabelul 3.1.2.8*

**Modificările conţinutului proteinelor totale în ser şi coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) la şobolani în hepatita toxică experimentală prin paracetamol şi utilizarea preparatelor entomologice**

| Nr. d/o | Grupele | Numărul de animale | Proteinele Totale, g/l | CAH |
|---|---|---|---|---|
| 1 | Lotul intact | 7 | 69,6 ±1,3 | |
| 2 | Paracetamol 500 mg/kg unimomentan peste 7 zile | 6 | 76,8± 1,2<br>$P_{1-2}<0,05$ | |
| 3 | Paracetamol 500mg/kg +entoheptin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 70,7±1,7<br>$P_{1-3}>0,05$<br>$P_{2-3}<0,05$ | 0,09 |
| 4 | Paracetamol 500 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g 7 zile | 6 | 77,8+6,7<br>$P_{1-4}>0,05$<br>$P_{2-4}>0,05$ | -0,01 |
| 5 | Paracetamol 500 mg/kg + imupurin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 70,4+2,2<br>$P_{1-5}>0,05$<br>$P_{2-5}<0,05$ | 0,09 |
| 6 | Paracetamol 500 mg/kg unimomentan peste 14 zile | 6 | 70,7±1,4<br>$P_{1-5}>0,05$<br>$P_{2-5}<0,05$ | |
| 7 | Paracetamol 500 mg/kg + entoheptin 50 mg/100g 14 zile | 6 | 74,8±2,9<br>$P_{1-7}>0,05$<br>$P_{3-7}>0,05$<br>$P_{6-7}>0,05$ | 0,06 |
| 8 | Paracetamol 500 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g 14 zile | 7 | 70,0±1,4<br>$P_{1-8}>0,05$<br>$P_{4-8}>0,05$<br>$P_{6-8}>0,05$ | -0,01 |
| 9 | Paracetamol 500 mg/kg + imupurin 50 mg/100g 14 zile | 7 | 70,8±1,3<br>$P_{1-9}>0,05$<br>$P_{5-9}>0,05$<br>$P_{6-9}>0,05$ | 0 |

La modelarea afecţiunii hepatice prin paracetamol (2 g/kg intern) la şobolani s-a constatat o micşorare a nivelului proteinelor totale, albuminelor şi coeficientului albumine/globuline. În acest caz extractul din *Ocimum sanctum*, care conţine acid linoleic (acţiune antiinflamatoare şi membranostabilizatoare), a manifestat efect hepatoprotector, care se potenţa reciproc la asocierea cu silimarină (Lahon K., Das S., 2011).

Acetaminofenul în doză unică de 700 mg/kg intern la şobolani a determinat o diminuare nesemnificativă a nivelului proteinelor totale. Tratamentul cu preparatul prohepar (conţine aminoacizi esenţiali, oligopeptide, nucleotide, cisteină, cianocobalamină, mioinozitol, colină) a contribuit la majorarea conţinutului proteinelor totale (Демидов В.И. и др., 2011). Autorii consideră că efectul preparatului este determinat de acţiunea componenţilor. Astfel, cisteina este donator de SH-grupe, esenţiale pentru detoxicare şi activitatea sistemului antioxidant, colina şi mioinozitolul prin donarea grupelor $CH_3$ contribuie la metilare, iar cianocobalamina asigură transportul acestora, în timp ce aminoacizii, oligopeptidele şi nucleotidele sunt nesecare pentru procesele metabolice şi de sinteză.

Studiul unor parametri integri ai metabolismului glucidic, lipidic şi proteic a demonstrat că la animalele din lotul de control (administrarea paracetamolului în doza unică de 500 mg/kg) după 7 zile s-a constatat o hiperproteinemie şi o tendinţă spre hiperglicemie şi hipercolesterolemie. După 2 săptămâni nivelul proteinelor revenea la cifrele iniţiale, pe când cel al glucozei se micşora sub cel al animalelor intacte, iar tendinţa spre hipercolesterolemie se menţinea. E necesar de menţionat că modificările constatate, posibil, sunt de ordin compensator, îndreptat spre echilibrarea statutului energetic şi metabolic, deoarece cifrele parametrilor studiaţi erau în limitele normale (caracteristice şobolanilor) sau puţin majorate. Aceste presupuneri pot fi argumentate prin diminuarea parţială a concentraţiei glucozei şi colesterolului şi normalizarea proteinelor totale după 14 zile de la administrarea hepatotoxicului. Totodată se poate conchide că la etapele iniţiale (7 zile) modificările metabolice (tendinţa spre hiperglicemie şi hipercolesterolemie, hiperproteinemie) pot avea, pe de o parte, caracter adaptiv pentru celule, inclusiv hepatocite, iar, pe de altă parte, pot determina unele modificări la nivel membranar cu diminuarea penetrării substanţelor endogene în celulă sau intensificarea eliberării şi/sau producerii lor de celule.

Substanţele cercetate nu aveau influenţe marcate asupra parametrilor studiaţi. Astfel, entoheptinul provoca o majorare ceva mai mare ca la animalele din lotul de control a glucozei fără a modifica colesterolul şi proteinele totale în termenele precoce ale afecţiunii hepatice experimentale. Posibil, în acest caz preparatul compensa deficitul energetic prin glucoză. În acelaşi timp, imuheptinul manifesta efecte contrare prin creşterea nivelului colesterolului şi proteinelor totale. Imupurinul determina o acţiune de echilibrare a parametrilor respectivi cu normalizarea lor. În termenele mai tardive (după 14 zile) substanţele cercetate manifestau modificări contrare faţă de lotul de control (deşi nesemnificative) şi de acţiunea substanţelor după 7 zile. Acestea ar putea fi determinate de necesităţile de adaptare ale hepatocitelor afectate prin modificarea statutului energetic şi metabolic. Posibil, anume un nivel mai ridicat al glucozei după 14 zile, cauzat de substanţele cercetate, ne-ar confirma un mecanism adaptiv al asigurării cu metabolitul energetic esenţial pentru restabilirea activităţii hepatocitelor.

Ficatul este principalul organ implicat în inactivarea xenobioticelor, inclusiv a medicamentelor. Hepatocitele funcţionează în condiţiile unor concentraţii mari de forme reactive şi toxice ale preparatelor medicamentoase. Ultimele pot fi toxice în formele native sau sub formă de metaboliţi, obţinuţi în procesele de metabolizare, fie în urma biotransformării prin intermediul citocromului P-450 sau ineficacităţii conjugării cu participarea glucuroniltransferazei, glutation-S-transferazei, sulfatazelor etc. Lezarea hepatocitelor se poate realiza prin: 1) afectarea membranei celulare şi dereglarea citoscheletului; 2) disfuncţia mitocondriilor; 3) dereglarea homeostazei intracelulare a ionilor ($Ca^{++}$ etc.); 4) activarea enzimelor de degradare a substanţelor; 5) stresul oxidativ în urma necorespunderii rezervelor pro- şi antioxidante ale hepatocitelor. În procesele afectării toxice a hepatocitelor se pot implica şi unele mecanisme imunologice: funcţionarea limfocitelor chileri şi cooperaţiilor celulare; formarea de neoantigeni şi autoanticorpi; acţiunea mediatorilor (citochinelor, monoxidului de azot); activarea sistemului complementului (Оковитый С.В., Шуленин С.Н., 2006, ).

Paracetamolul, utilizat în doze terapeutice, se supune preponderent procesului de conjugare cu acidul glucuronic şi sulfuric, şi doar o cantitate mică se oxidează de către CYT P-450 (CYP 2E1, CYP 1A2, CYP 3A4) în metabolitul reactiv N-acetil-benzochinonimină (Венгеровский А.И., Саратиков А.С., 1991; Куценко С.А., 2002). Ultimul se formează în cantităţi excesive la utilizarea dozelor mari de paracetamol. Drept urmare, are loc cuplarea cu gruparea SH a proteinelor membranare cu dereglarea funcţiei mitocondriilor, nucleului, homeostazei calciului intracelular şi necroza hepatocitelor. Hepatotoxicitatea paracetamolului va creşte în cazul reducerii capacităţii de sulfatare şi glucuronoconjugare, precum şi la inducţia enzimelor microzomiale hepatice (Венгеровский А.И., Саратиков А.С., 1991). Astfel, fenobarbitalul, ca un inductor al CYT P-450, şi utilizarea acidului glucuronic prin glucuronizarea intensă a metaboliţilor săi creşte hepatotoxicitatea paracetamolului. În cazul inducţiei CYP 2E1 prin etanol, foame se constată creşterea toxicităţii paracetamolului, iar la utilizarea inhibitorilor izoenzimei respective prin dimetilsulfoxid, dietilcarbamat se reduce hepatotoxicitatea acestora (Куценко С.А., 2002).

Hepatotoxicitatea paracetamolului se caracterizează prin sindromul de citoliză (creşterea transaminazelor, LDH); colestază (inhibarea secreţiei bilei, sintezei şi secreţiei acizilor biliari; eliminarea bilei şi colesterolului cu bila) şi diminuarea funcţiei sintetice (micşorarea sintezei proteinelor, protrombinei etc.). Mecanismul acţiunii hepatotoxice este cauzat de cuplarea paracetamolului şi/sau metabolitului său (N-acetil-p-benzochinonimină) cu grupele nucleofile ale biomacromoleculelor hepatocitelor (SH-grupele enzimelor etc.), precum şi prin capacitatea radicalului liber N-acetil-n-benzosemichinonimină şi anionului superoxid de a iniţia POL (Венгеровский А.И., Саратиков А.С., 1991). Aceste procese se realizează în cazul reducerii conţinutului glutationului redus cu 70 – 90%, când se micşorează cuplarea metaboliţilor şi activitatea glutationperoxidazei şi glutationreductazei. În situaţia respectivă creşte formarea metabolitului hepatotoxic, datorită activării citocromului P-450 şi reducerii conjugării cu acidul glucuronic şi sulfuric. Oxidazele sistemului citocromului P-450 manifestă o activitate maximă preponderent în zona centrolobulară în care se constată şi interacţiunea paracetamolului cu proteinele microzomale şi citozolice ale hepatocitelor cu dezvoltarea hipoxiei şi necrozei.

Cele menţionate mai sus, posibil, responsabile de afecţiunea hepatică prin paracetamol, sunt constatate în studiile noastre. Considerăm că s-a determinat preponderent un sindrom de citoliză relevat prin creşterea AlAT, AsAT şi LDH în ser cu diminuarea lor respectivă în ficat. Colestaza în cazul dat era mai puţin evidentă, deoarece nivelul FAl şi GGTP în ser avea tendinţă de majorare, iar în ficat de reducere.

Analiza rezultatelor expuse mai sus ne permit să constatăm că paracetamolul, în doze toxice subletale, produce o afectare a ficatului prin lezarea membranelor hepatocitelor şi organitelor intracelulare (mitocondrii, reticulul endoplasmatic etc.) cu creşterea permeabilităţii lor şi ieşirea enzimelor citoplasmatice (AlAT, SDH, LDH, GGTP) şi mitocondriale ( AsAT), relevată prin micşorarea conţinutului lor în ficat. Aceste modificări sunt maxime în primele 24 ore, urmând să se stabilizeze între a 3-a - 7-a zi, iar spre a 14-a zi să se includă mecanismele adaptiv-reparative, manifestate inclusiv şi prin evoluţia parametrilor metabolici (glucoza, colesterolul şi proteinele totale ).

Tratamentul cu preparatele entomologice s-a soldat cu preîntâmpinarea parţială a leziunilor hepatocelulare şi intensificarea proceselor reparative, relevate prin indicii integrali IH şi CAH (tab.3.1.2.9). Substanţele cercetate au determinat o evoluţie benefică a sindromului de citoliză, mai manifest în termenele precoce la imuheptin (CAHS – 0,33), urmat de entoheptin (CAHS – 0,27) şi imupurin (CAHS – 0,16), iar în cele tardive la imupurin (CAHS – 0,29), apoi entoheptin (CAHS – 0,19) şi imuheptin (CAHS – 0,16). E necesar de menţionat că preparatele entomologice mai marcat diminuau activitatea enzimelor mai specifice ficatului (AlAT, SDH), îndeosebi în prima săptămână de tratament. Majorarea preponderentă a activităţii enzimelor citoplasmatice (AlAT, SDH, LDH) poate fi determinată de creşterea permeabilităţii membranelor celulare, cauzată de procesul inflamator, prezent în cazul afecţiunii hepatice induse prin paracetamol. Eficacitatea preparatelor entomologice ar fi rezultatul reducerii inflamaţiei, demonstrată şi în cazul pretratamentului cu acestea. Diminuarea mai relevantă a activităţii AsAT în ser cu creşterea conţinutului în ficat la tratamentul cu imupurin, imuheptin şi entoheptin timp de 14 zile poate fi cauzată de inducerea proceselor reparative şi sintetice. Totodată nu s-a obţinut normalizarea deplină a parametrilor studiaţi, fapt ce ne relevă despre necesitatea continuării tratamentului.

Dozele toxice de paracetamol determinau dezvoltarea unui sindrom moderat de colestază, remarcat prin majorarea activităţii în ser a FAl şi GGTP, cu o diminuare preponderentă a conţinutului GGTP în ficat. Majorarea semnificativă a activităţii FAl în ser cu modificări neesenţiale a nivelului acesteia în ficat, posibil, este determinată de intensificarea sintezei enzimei în ficat ca răspuns la creşterea nivelului acizilor biliari ca urmare a micşorării eliminării lor, precum şi a procesului inflamator, fapt constatat histologic, cu acumularea leucocitelor, care pot fi şi ele sursă de FAl. În acelaşi timp, majorarea activităţii GGTP în ser cu reducerea conţinutului ei în ficat este determinată nu numai de colestază, ci şi de procesele inflamatoare, deoarece GGTP este o enzimă parţial caracteristică şi pentru procesele de leziune hepatocelulară. Preparatele entomologice au manifestat un efect benefic asupra evoluţiei sindromului de colestază, îndeosebi în prima săptămână de tratament. Astfel, entoheptinul a contribuit la o diminuare mai accentuată a activităţii FAl şi GGTP în ser (CAHS – 0,73) cu o majorare moderată a conţinutului enzimelor în ficat (CAHS – 0,16). În aceste condiţii imupurinul şi imuheptinul au demonstrat un efect moderat, îndeosebi faţă de activitatea enzimelor în ser (CAHS – 0,33 şi 0,27 respectiv). Tratamentul timp de 2 săptămâni cu preparatele entomologice a înregistrat în continuare o dinamică pozitivă a parametrilor sindromului de colestază, fără a se constata normalizarea acestora. Entoheptinul cel mai intens a influenţat diminuarea activităţii FAl şi GGT în ser (CAHS - 0,37), dar mai relevantă a fost acţiunea preparatelor, în comparaţie cu termenele precoce, asupra nivelului enzimelor în ficat (tab.3.1.2.9).

*Tabelul 3.1.2.9*

**Activitatea hepatoprotectoare a preparatelor entomologice asupra sindroamelor hepatice la tratamentul afecţiunii toxice induse prin paracetamol**

| Sindromul | parametrii | Paracetamol 7 zile | | | Paracetamol 14 zile | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Entoheptin | Imuheptin | Imupurin | Entoheptin | Imuheptin | Imupurin |
| Citoliză | AsAT | 0,1 | 0,34 | 0,03 | 0,21 | 0,26 | 0,37 |
| | AlAT | 0,42 | 0,56 | 0,21 | 0,26 | 0,11 | 0,33 |
| | LDH | -0,11 | 0,07 | -0,12 | 0,18 | 0,19 | 0,28 |
| | SDH | 0,56 | 0,35 | 0,53 | 0,13 | 0,09 | 0,18 |
| | **CAHS** | **0,27** | **0,33** | **0,16** | **0,19** | **0,16** | **0,29** |
| Colestază | GGTP | 0,4 | 0,48 | 0,41 | 0,14 | 0,16 | 0,12 |
| | FAl | 1,07 | 0,06 | 0,25 | 0,61 | 0,11 | -0,01 |
| | **CAHS** | **0,73** | **0,27** | **0,33** | **0,37** | **0,13** | **0,05** |
| Insuficienţă hepatocelulară | Glucoza | 0,09 | -0,07 | -0,05 | 0,13 | 0,06 | 0,1 |
| | Colesterolul total | 0,17 | 0 | 0,15 | 0,06 | -0,05 | -0,03 |
| | Proteinele totale | 0,09 | -0,01 | 0,09 | 0,06 | -0,01 | 0 |
| | **CAHS** | **0,12** | **-0,03** | **0,06** | **0,08** | **0** | **0,02** |
| **Modificările nivelului enzimelor în ficat** | | | | | | | |
| Citoliză | AsAT | 0,06 | 0,43 | 0,1 | 0,78 | 0,5 | 0,81 |
| | AlAT | 0,95 | 0,92 | 0,79 | 0,74 | 0,72 | 0,57 |
| | LDH | 0,01 | 0,1 | 0,05 | 0,24 | 0,25 | 0,19 |
| | **CAHS** | **0,34** | **0,48** | **0,31** | **0,59** | **0,49** | **0,52** |
| Colestază | GGTP | 0,16 | 0,05 | 0,03 | 0,26 | 0,19 | 0,2 |
| | FAl | 0,1 | 0,03 | 0,04 | 0,06 | 0,02 | 0,08 |
| | **CAHS** | **0,13** | **0,04** | **0,03** | **0,16** | **0,1** | **0,14** |

Afecţiunea toxică a ficatului, indusă de paracetamol, nu s-a soldat cu dezvoltarea unui sindrom manifest de insuficienţă hepatocelulară, modificările metabolismului având preponderent un caracter adaptiv în funcţie de termenele de cercetare. Astfel, în faza acută (7 zile) se constata o tendinţă spre hiperglicemie, posibil, datorită intensificării glicogenolizei, cu diminuarea conţinutului glicogenului în ficat, şi utilizării acizilor graşi ca sursă de energie. În faza reparativă (14 zile), probabil, se intensifică utilizarea glucozei prin restabilirea proceselor aerobe ale metabolismului, relevate şi prin tendinţa spre hipoglicemie. Preparatele entomologice nu au modificat semnificativ parametrii metabolismului, confirmate şi prin valorile CAHS (tab.3.1.2.9). Acestea mai frecvent au manifestat efecte opuse hepatotoxicului, posibil, prin evoluţia normală a proceselor metabolice, datorită aportului de substraturi energetice şi ameliorarea proceselor patologice la nivelul membranei hepatocitelor şi organitelor intracelulare.

Preparatele entomologice au manifestat efecte benefice în afecţiunea hepatică indusă prin paracetamol, posibil prin mai multe mecanisme: prezenţa substraturilor cu efect protector; modularea sistemului imun; preîntâmpinarea formării unor produse intermediare toxice ale hepatotoxicului; stabilizarea membranelor hepatocitelor, fie direct sau indirect; creşterea activităţii antioxidante. Un aport esenţial, probabil, îl aduc aminoacizii esenţiali şi non-esenţiali. Am menţiona rolul deosebit al cisteinei, care participă la sinteza glutationului, precum şi la cuplarea metaboliţilor paracetamolului, micşorând astfel toxicitatea lor. Un rol similar îl au metionina şi acidul glutamic, care se pot transforma în cisteină sau stimula procesele de sulfatare prin donarea sulfat-ionului (Sozen S.et al., 2011, Венгеровский А.И., Саратников А.С., 1991). Sub acest aspect, entoheptinul, imuheptinul şi imupurinul conţin cantităţi importante de aceşti aminoacizi (Ghicavîi şi coaut., 2006). Indiscutabil, un rol important în păstrarea sau restabilirea funcţiei hepatocitelor îl pot juca şi alţi aminoacizi precum acidul glutamic, triptofanul, arginina, serina, acidul asparagic, fenilalanina etc., care pot fi ca substraturi pentru enzimele respective (AlAT, AsAT, LDH).

O verigă importantă a hepatotoxicităţii paracetamolului o reprezintă formarea de radicali liberi cu activarea POL şi diminuarea activităţii sistemului antioxidant (Kikkawa R. şi coaut., 2005; Bhattacharjee H., Sil P.C., 2006; Kupeli E şi coaut., 2006). În acest context preparatele entomologice conţin o cantitate importantă de antioxidanţi hidrosolubili (V. Ghicavîi şi coaut., 2006).

**Concluzii:**

1. Afecţiunea hepatică toxică, indusă prin paracetamol, se caracteriza la a 7-a zi printr-un sindrom moderat de citoliză (creşterea de 2-3 ori a activităţii AsAT, AlAT, SDH cu micşorarea de 1,5-2 ori a nivelului AsAT, AlAT în ficat) şi colestază (majorarea de 2-3 ori a activităţii FAl şi GGTP în ser cu reducerea de 1,5 ori a conţinutului GGTP în ficat) cu diminuarea lor neseminificativă la a 14-a zi.

2. Tratamentul cu preparatele entomologice a contribuit la ameliorarea sindromului de citoliză (diminuarea activităţii AlAT, AsAT, SDH în ser şi majorarea ni-

velului transaminazelor şi LDH în ficat) şi colestază (micşorarea activităţii GGTP şi FAl în ser cu menţinerea conţinutului lor în ficat) în afecţiunea hepatică toxică indusă prin paracetamol.

3. Imuheptinul a influenţat mai efectiv sindromul de citoliză şi moderat cel de colestază, îndeosebi după o săptămână de tratament.

4. Entoheptinul a diminuat mai marcat sindromul de colestază (micşorarea activităţii GGTP şi FAl în ser cu menţinerea nivelului lor în ficat), îndeosebi în termenele precoce de tratament, şi moderat cel de citoliză (reducerea activităţii transaminazelor şi SDH în ser cu restabilirea nivelului AsAT, AlAT şi LDH în ficat), mai semnificativ în termenele tardive de tratament.

5. Imupurinul a manifestat eficacitate moderată faţă de sindromul de citoliză şi colestază, care devenea mai importantă odată cu creşterea duratei tratamentului.

6. Preparatele entomologice exercitau acţiune modulatoare asupra proceselor metabolice (diminuarea hiper- sau hipoglicemiei, hipercolesterolemiei şi hiperproteinemiei relative) în ficat, în funcţie de evoluţia şi termenele afecţiunii toxice induse de paracetamol.

7. Imuheptinul, entoheptinul şi imupurinul manifestă activitate hepatoprotectoare relevată preponderent prin dinamica pozitivă a activităţii şi conţinutului enzimelor cu selectivitate şi sensibilitate mai importantă pentru ficat (AlAT, SDH, GGTP).

8. Efectul hepatoprotector al preparatelor entomologice, posibil, este complex şi determinat de aportul de substanţe cu rol de substituţie şi de sinteză (lipide, proteine, aminoacizi, enzime, antioxidanţi), precursori ai substraturilor endogene (aminoacizi, lipide, antioxidanţi) şi surse energetice (lipide, proteine, glucide), precum şi de acţiunea imunotropă, îndeosebi la imupurin şi imuheptin.

## 3.2 Preparatele entomologice în prevenirea şi evoluţia afecţiunii ischemice a ficatului

Stările de urgenţă frecvent cauzează dereglări importante ale hemodinamicii sistemice cu reducerea circulaţiei în ficat şi dezvoltarea unei stări numite „hepatita ischemică", „ficatul de şoc" sau „hepatita hipoxică", care deseori se consideră ca sinonime. Ischemia ficatului cauzată de intervenţiile chirurgicale pe organ (rezecţie, transplantul de ficat) sau accidentele tromboembolice, precum şi de situaţii ce afectează fluxul hepatic – intervenţii pe vase, stările de şoc (hemoragic, cardiogen, septic etc.), afecţiuni cardiovasculare, pulmonare, crash sindromul, sindromul abdominal, chirurgia laparoscopică, resuscitarea, utilizarea preparatelor vasoconstrictoare etc. pot determina dereglări ischemice şi postischemice nu numai în organul dat, dar şi în întregul organism (Romanque U.P. et al., 2005, Glantzounis G.K. et al., 2005, Hossein Ali Arab et al., 2009, Henrion J., 2011, Sozen S.et al., 2011, Гальперин Э.М. и др., 2000, Ярошенко И.Ф., Каланчина Т.Ю., 2006, Малова

И.Ю., 2007, Андреева Н.Н. и др., 2009, Николаев С.Б.и др.,2010, Бежин А.И., Перьков А.А., 2010, Николаев С.Б., 2011). În aceste situaţii sunt necesare măsuri de corecţie, inclusiv farmacoterapeutice. Folosirea cu acest scop a tocoferolilor, acidului ascorbic, citocromului C endogen, derivaţilor sintetici (fenozan, dibunol, oxibat de sodiu, resveratrol etc.) a permis rezolvarea unor aspecte ale problemei în medicina practică. Una din căile de profilaxie şi de tratament a sindromului postischemic constă în ameliorarea proceselor metabolice în zona ischemică, inclusiv prin utilizarea metaboliţilor naturali, ce pot interveni ca factori de adaptare la acţiunea extremală şi patologică a hipoxiei asupra organismului. Sub acest aspect, un interes deosebit prezintă membranoprotectoarele – produse intermediare ale ciclului Krebs, precum şi aminoacizii, vitaminele. Mai mulţi cercetători consideră raţional de a cerceta şi introduce remedii cu proprietăţi complexe - hepatoprotectoare, antioxidante şi imunomodulatoare.

Afecţiunea hepatică de tip ischemic s-a modelat prin administrarea alfa-adrenomimeticului fenilefrina intraperitoneal în doza sumară de 125 mg/kg (I zi – 10 mg/kg, II zi – 15 mg/kg, III-VII zi – câte 20 mg/kg). Animalele au fost subdivizate în 9 grupe: I- lotul intact; II – fenilefrina în doza sumară 125 mg/kg timp de 7 zile; III- fenilefrina în doza sumară 125 mg/kg + entoheptin 50 mg/100g per os timp de 7 zile; IV - fenilefrina în doza sumară 125 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g per os timp de 7 zile; V - fenilefrina în doza sumară 125 mg/kg + imupurin 50 mg/100g per os timp de 7 zile; VI - fenilefrina în doza sumară 125 mg/kg timp de 7 zile la a 14 zi; VII- fenilefrina în doza sumară 125 mg/kg + entoheptin 50 mg/100g per os timp de 14 zile; VIII - fenilefrina în doza sumară 125 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g per os timp de 14 zile; IX - fenilefrina în doza sumară 125 mg/kg + imupurin 50 mg/100g per os timp de 14 zile. Substanţele cercetate se administrau intern, fiind amestecate în bolul alimentar. Animalele erau supravegheate până au ingerat bolul alimentar. După 7 şi 14 zile animalele erau sacrificate prin eutanazare, cu determinarea parametrilor biochimici în sânge (glucozei, colesterolului, proteinelor totale, creatininei, ureei, AsAT, AlAT, LDH, SDH, FAl, GGTP) şi în ficat (AsAT, AlAT, FAl, GGTP, LDH).

Administrarea intraperitoneală a fenilefrinei în doza sumară de 125 mg/kg peste 7 zile în lotul de control a determinat o creştere a activităţii AlAT de la 56,7±2,8 până la 90,3± 8,4 U/L în ser (P<0,05) şi AsAT de la 164,2±10,9 până la 200,8±11,6 U/L (P<0,05). Majorarea AsAT de 1,2 ori şi AlAT de 1,6 ori s-a soldat cu micşorarea raportului de Ritis de la 2,89 până la 2,22.

Tratamentul cu entoheptin în doza de 50 mg/100g pe parcursul a 7 zile a contribuit la o diminuare nesemnificativă a activităţii AsAT şi vădită a AlAT, relevată prin majorarea raportului de Ritis faţă de lotul de control (tab.3.2.1). Administrarea inuheptinului şi imupurinului timp de o săptămână a determinat o reducere a activităţii AlAT de la 90,3± 8,4 respectiv până la 67,8+7,2 şi 71,5±4,4 U/L (P>0,05), fără a modifica activitatea AsAT. În aceste condiţii s-a remarcat o majorare a raportului de Ritis peste valorile animalelor intacte (tab.3.2.1).

Rezultatele relatate ne permit să concluzionăm că preparatele entomologice au influenţat benefic asupra activităţii AlAT, relevată şi prin valori importante ale IH (59%; 67% şi 60%) şi CAH (0,28; 0,34 şi 0,27).

Activitatea AsAT în ser la a 14-a zi după injectarea intraperitoneală a alfa-adrenomimeticului era la nivelul animalelor din lotul de control după 7 zile (tab.3.2.1). În aceste condiţii activitatea AlAT se micşora de la 90,3± 8,4 până la 74,0+ 8,5 U/L (P>0,05), iar raportul de Ritis revenea practic la nivelul animalelor intacte.

*Tabelul 3.2.1*

**Modificările activităţii AsAT şi AlAT în ser, indicelui de hepatoprotecţie (IH), coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) şi raportului de Ritis la şobolani în afecţiunea hepatică ischemică prin fenilefrină şi tratamentul cu preparatele entomologice**

| Nr. d/o | Grupele | Nr. de animale | AsAT, U/L | IH % | CAH | AlAT, U/L | IH % | CAH | Raportul de Ritis |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Lotul intact | 7 | 164,2+10,9 | | | 56,7+2,8 | | | 2,89 |
| 2 | Fenilefrina 125 mg/kg peste 7 zile | 7 | 200,8+11,6<br>$P_{1-2}<0,05$ | | | 90,3± 8,4<br>$P_{1-2}<0,05$ | | | 2,22 |
| 3 | Fenilefrina 125 mg/kg + entoheptin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 179,4+12,2<br>$P_{1-3}>0,05$<br>$P_{2-3}>0,05$ | 59 | 0,12 | 70,4±2,6<br>$P_{1-3}<0,05$<br>$P_{2-3}<0,05$ | 59 | 0,28 | 2,54 |
| 4 | Fenilefrina 125 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g 7 zile | 6 | 203,2±15,0<br>$P_{1-4}<0,05$<br>$P_{2-4}>0,05$ | -6 | -0,01 | 67,8±7,2<br>$P_{1-4}>0,05$<br>$P_{2-4}>0,05$ | 67 | 0,34 | 3,0 |
| 5. | Fenilefrina 125 mg/kg + imupurin 50 mg/100g 7 zile | 6 | 211,7+14,2<br>$P_{1-5}<0,05$<br>$P_{2-5}>0,05$ | -30 | -0,05 | 71,5+4,4<br>$P_{1-5}<0,05$<br>$P_{2-5}>0,05$ | 60 | 0,27 | 2,96 |
| 6 | Fenilefrina 125 mg/kg peste14 zile | 7 | 200,7±28,6<br>$P_{1-6}>0,05$<br>$P_{2-6}>0,05$ | | | 74,0±8,5<br>$P_{1-5}>0,05$<br>$P_{2-5}>0,05$ | | | 2,82 |
| 7 | Fenilefrina 125 mg/kg + entoheptin 50 mg/100g peste 14 zile | 7 | 190,6+11,9<br>$P_{1-7}>0,05$<br>$P_{3-7}>0,05$<br>$P_{6-7}>0,05$ | 28 | 0,05 | 78,1±7,0<br>$P_{1-7}<0,05$<br>$P_{3-7}>0,05$<br>$P_{6-7}>0,05$ | -20 | -0,05 | 2,44 |
| 8 | Fenilefrina 125 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g peste14 zile | 7 | 192,6±14;2<br>$P_{1-8}>0,05$<br>$P_{4-8}>0,05$<br>$P_{6-8}>0,05$ | 23 | 0,04 | 73,8+4,0<br>$P_{1-8}>0,05$<br>$P_{4-8}>0,05$<br>$P_{6-8}>0,05$ | 2 | 0 | 2,61 |
| 9 | Fenilefrina 125 mg/kg + imupurin 50 mg/100g peste 14 zile | | 181,3±11,5<br>$P_{1-9}>0,05$<br>$P_{5-9}<0,05$<br>$P_{6-9}>0,05$ | 53 | 0,11 | 67,7±3,6<br>$P_{1-9}>0,05$<br>$P_{5-9}>0,05$<br>$P_{6-9}>0,05$ | 37 | 0,09 | 2,67 |

Tratamentul cu entoheptin, imuheptin şi imupurin timp de 2 săptămâni a determinat o diminuare a activităţii AsAT în ser de la 200,7±28,6 respectiv până la 190,6±11,9 U/L (P>0,05), 192,6±14,2 U/L (P>0,05) şi 181,3±11,5 U/L (P<0,05), fără oscilaţii esenţiale ale activităţii AlAT faţă de lotul de control. Aceste modificări au determinat o reducere a raportului de Ritis în comparaţie cu animalele netratate, precum şi valori moderate ale IH şi neesenţaile ale CAH (tab.3.2.1).

Analiza activităţii transaminazelor în ser în afecţiunea hepatică ischemică indică la dezvoltarea unui sindrom slab de citoliză, care tinde să se reducă în intensitate peste 2 săptămâni, preponderent prin micşorarea activităţii AlAT. Posibil, că originea AsAT este nu numai hepatică, dar şi cardiacă. Preparatele entomologice provocau o diminuare mai accentuată a hiperfermentemiei după 7 zile de folosire, dar fără normalizarea completă a parametrilor studiaţi. E necesar de menţionat că substanţele cercetate micşorau esenţial activitatea AlAT ceea ce ne denotă despre o influenţă preponderentă a lor asupra ficatului. Totodată putem să afirmăm că preparatele entomologice nu preîntâmpină afectarea hepatocitelor, ci doar contribuie la restabilirea mai rapidă a funcţiilor lor. Activitatea AsAT era influenţată de substanţele cercetate în termenele tardive ale afecţiunii ischemice, indusă de fenilefrină.

Studiile experimentale au relevat că la modelarea afecţiunii hepatice prin administrarea intraperitoneală a unei doze sumare de 125 mg/kg de fenilefrină în ficat se micşora nivelul AsAT de la 840,6 ± 58,6 U/l până la 347,9 ± 56,6 U/l (P<0,05), iar a AlAT de la 353,4± 28,4 U/l până la 331,7 ± 63,9 U/l (P>0,05). Administrarea entoheptinului timp de 7 zile pe fundalul modelării afecţiunii hepatice ischemice nu s-a soldat cu modificări esenţiale ale nivelului AsAT, cu majorarea celui a AlAT, date confirmate şi prin CAH (tab.3.2.2). În acelaşi timp, utilizarea produsului entomologic pe o durată de 2 săptămâni a contribuit la restabilirea completă a conţinutului AlAT şi parţială a AsAT în ficat (tab.3.2.2). Imuheptinul, folosit timp de 7 şi 14 zile, contribuia la refacerea completă a nivelului AlAT şi parţială a celui a AsAT în ficat. Imupurinul, în condiţii similare, manifesta un efect de restabilire a conţinutului AlAT în termenele precoce şi tardive ale afecţiunii hepatice, în timp ce nivelul AsAT nu revenea la cel al animalelor intacte nici peste 2 săptămâni de urilizare a preparatului entomologic.

Analiza rezultatelor obţinute denotă o corelaţie între nivelul AlAT în ficat şi activitatea enzimei în ser la modelarea afecţiunii ischemice, precum şi un efect moderat de hepatoprotecţie al preparatelor entomologice în termenele precoce. Această corelaţie nu se observa şi în cazul AsAT în termenele precoce, îndeosebi pentru imuheptin şi imupurin, când se constata o tendinţă de majorare a conţinutului enzimei în ficat fără modificarea practic a activitatăţii în ser. Concomitent, după 2 săptămâni de tratament cu preparatele entomologice odată cu diminuarea neesenţailă a activităţii AsAT în ser se depista majorarea nivelului enzimei în ficat, îndeosebi pentru imuheptin, fapt confirmat şi prin IH şi CAH.

Administrarea timp de 7 zile a fenilefrinei în doza sumară de 125 mg/kg a contribuit la majorarea activităţii LDH în ser de la 1710,1±125,6 până la 1988,1±191,0 U/l (cu 16%, P>0,05), iar a fracţiilor $LDH_{1-2}$ de la 959,0±166,7 până la 1124,1

±126,5 U/l (cu 17%, P>0,05). Am menţiona că în acest caz s-a constatat o creştere proproţională a enzimei şi a fracţiilor 1 şi 2 cu menţinerea raportului $LDH_{1-2}$/LDH la nivelul de 56%. Tratamentul cu entoheptin în doza de 50 mg/100g pe parcursul unei săptămâni a contribuit la diminuarea activităţii LDH la nivelul animalelor intacte, pe fundalul creşterii cu 24% a $LDH_{1-2}$, constituind 69% din activitatea totală a enzimei (tab.3.2.3). La folosirea concomitentă a imuheptinului şi imupurinului cu alfa-adrenomimeticul timp de 7 zile s-a constatat o tendinţă de majorare a activităţii LDH (respectiv cu 39% şi 31%), îndeosebi pe contul $LDH_{1-2}$ (respectiv cu 56% şi 63%) cu modificarea raportului $LDH_{1-2}$/LDH până la 67%ţi 68%. Aceste date sunt confirmate şi prin valorile negative ale IH şi CAH ( tab.3.2.3).

*Tabelul 3.2.2*

**Modificarea conţinutului AsAT şi AlAT în ficat, indicelui de hepatoprotecţie (IH), coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) la şobolani în afecţiunea hepatică ischemică prin fenilefrină şi tratamentul cu preparatele entomologice**

| Nr. d/o | Grupele de animale | Nr. de animale | AsAT U/l | IH % | CAH | AlAT U/l | IH % | CAH |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Lotul martor | 7 | 840,6 + 58,6 | | | 353,4 ± 28,4 | | |
| 2 | Fenilefrina 125 mg/kg peste 7 zile | 7 | 347,9 ± 56,6<br>$P_{1-2} < 0,05$ | | | 331,7 ± 63,9<br>$P_{1-2} < 0,05$ | | |
| 3 | Fenilefrina 125 mg/kg + entoheptin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 354,0±61,2<br>$P_{1-2} < 0,05$<br>$P_{2-3} > 0,05$ | 2 | 0,02 | 431,1 ± 47,6<br>$P_{1-2} < 0,05$<br>$P_{2-3} > 0,05$ | 125 | 0,3 |
| 4 | Fenilefrina 125 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 442,3 ±74,9<br>$P_{1-4} < 0,05$<br>$P_{2-4} > 0,05$ | 20 | 0,27 | 375,0 ±31,6<br>$P_{1-4} < 0,05$<br>$P_{2-4} < 0,001$ | 1 | 0,13 |
| 5 | Fenilefrina 125 mg/kg + imupurin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 426,9 ±22,7<br>$P_{1-5} >0,05$<br>$P_{3-5} < 0,05$ | 16 | 0,22 | 348,0 ±43,9<br>$P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{3-5} < 0,05$ | 76 | 0,05 |
| 6 | Fenilefrina 125 mg/kg peste 14 zile | 7 | 382,3 +106,2<br>$P_{1-6} >0,05$<br>$P_{2-6} > 0,05$ | | | 336,14 ± 30,8<br>$P_{1-6} >0,05$<br>$P_{2-6} <0,05$ | | |
| 7 | Fenilefrina 125 mg/kg + entoheptin 50 mg/100g peste 14 zile | 7 | 581,9 ±103,6<br>$P_{1-7} >0,05$<br>$P_{6-7} < 0,05$<br>$P_{3-7} > 0,05$ | 44 | 0,52 | 358,4±43,1<br>$P_{1-7} >0,05$<br>$P_{6-7} <0,05$<br>$P_{3-7} > 0,05$ | 126 | 0,07 |
| 8 | Fenilefrina 125 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g peste14 zile | 7 | 723,4±63,6<br>$P_{1-8} <0,05$<br>$P_{6-8} < 0,05$<br>$P_{4-8} > 0,05$ | 75 | 0,89 | 349,0±13,6<br>$P_{1-8} >0,05$<br>$P_{6-8} <0,05$<br>$P_{4-8} > 0,05$ | 78 | 0,04 |
| 9 | Fenilefrina 125 mg/kg + imupurin 50 mg/100g peste 14 zile | 7 | 405,6±51,2<br>$P_{1-9} >0,05$<br>$P_{6-9} < 0,05$<br>$P_{5-9} > 0,05$ | 5 | 0,06 | 358,6±36,5<br>$P_{1-9} >0,05$<br>$P_{6-9} > 0,05$<br>$P_{5-9} > 0,05$ | 127 | 0,07 |

Peste 14 zile în lotul de control s-a constatat o tendinţă de micşorare a activităţii LDH şi $LDH_{1-2}$ în comparaţie cu a 7-a zi cu o majorare neesenţială a raportului $LDH_{1-2}$/LDH până la 60% faţă de 56% la a 7-a zi (tab.3.2.3). Administrarea entoheptinului timp de 2 săptămâni a contribuit la o diminuare nesemnificativă a LDH şi $LDH_{1-2}$, dar cu restabilirea raportului $LDH_{1-2}$/LDH la nivelul animalelor intacte (56%). După 14 zile de folosire a imuheptinului activitatea LDH şi $LDH_{1-2}$ nu se modifica semnificativ cu micşorarea raportului $LDH_{1-2}$/LDH de la 67% până la 58% în comparaţie cu a 7-a zi. Imupurinul, administrat timp de 2 săptămâni, a majorat activitatea LDH (cu 28%) şi $LDH_{1-2}$ (cu 39%) cu restabilirea raportului $LDH_{1-2}$/LDH la nivelul lotului de control (60%) la a 14-a zi. Aceste date au fost confirmate prin valorile negative ale CAH (tab.3.2.3).

*Tabelul 3.2.3*

**Modificările activităţii LDH şi LDH1-2 în ser, indicelui de hepatoprotecţie (IH) şi coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) la şobolani în afecţiunea hepatică ischemică prin fenilefrină şi tratamentul cu preparatele entomologice**

| N/r. d/o | Grupele | Nr. de animale | LDH, U/l | IH (%) | CAH | $LDH_{1-2}$, U/l | IH (%) | CAH |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Lotul intact | 7 | 1710,1±125,6 | | | 959,0+166,7 | | |
| 2 | Fenilefrina 125 mg/kg peste 7 zile | 7 | 1988,1±191,0<br>$P_{1-2}>0,05$ | | | 1124,1 ±126,5<br>$P_{1-2}>0,05$ | | |
| 3 | Fenilefrina 125 mg/kg + entoheptin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 1712,7+213,0<br>$P_{1-3}>0,05$<br>$P_{2-3}>0.05$ | 91 | 0,16 | 1187,2±260,4<br>$P_{1-3}>0,05$<br>$P_{2-3}>0,05$ | -37 | -0,05 |
| 4 | Fenilefrina 125 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g 7 zile | 6 | 2385,0±365,4<br>$P_{1-4}>0,05$<br>$P_{2-4}>0,05$ | -140 | -0,17 | 1501,9±394,6<br>$P_{1-4}>0.05$<br>$P_{2-4}>0.05$ | -226 | -0,25 |
| 5 | Fenilefrina 125 mg/kg + imupurin 50 mg/100g 7 zile | 6 | 2245,7+219,2<br>$P_{1-5}>0,05$<br>$P_{2-5}>0,05$ | -93 | -0,12 | 1413,2+217,0<br>$P_{1-5}>0,05$<br>$P_{2-5}>0,05$ | -151 | -0,21 |
| 6 | Fenilefrina 125 mg/kg peste14 zile | 7 | 1862,7+225,2<br>$P_{1-6}>0,05$<br>$P_{2-6}>0,05$ | | | 1112,1±94,0<br>$P_{1-5}>0,05$<br>$P_{2-5}>0,05$ | | |
| 7 | Fenilefrina 125 mg/kg + entoheptin 50 mg/100g 14 zile | 7 | 1775,7±216,7<br>$P_{1-7}>0,05$<br>$P_{3-7}>0,05$<br>$P_{6-7}>0,05$ | 97 | 0,05 | 1019,3±147,8<br>$P_{1-7}>0,05$<br>$P_{3-7}>0,05$<br>$P_{6-7}>0,05$ | 61 | 0,09 |
| 8 | Fenilefrina 125 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g 14 zile | 7 | 1897,0±226,3<br>$P_{1-8}>0,05$<br>$P_{4-8}>0,05$<br>$P_{6-8}>0,05$ | -24 | -0,02 | 1110,8±109,6<br>$P_{1-8}>0,05$<br>$P_{4-8}>0,05$<br>$P_{6-8}>0,05$ | 1 | 0,01 |
| 9 | Fenilefrina 125 mg/kg + imupurin 50 mg/100g 14 zile | 7 | 2203,8±149,9<br>$P_{1-9}<0,05$<br>$P_{5-9}>0,05$<br>$P_{6-9}>0,05$ | -230 | -0,16 | 1332,4±167,4<br>$P_{1-9}>0,05$<br>$P_{5-9}>0,05$<br>$P_{6-9}>0,05$ | -143 | -0,17 |

Rezultatele obţinute ne permit să concluzionăm că fenilefrina produce o afectare ischemică în organism cu majorarea proporţională a activităţii totale a LDH şi fracţiilor $LDH_{1-2}$. Entoheptinul cel mai efectiv preîntâmpina creşterea LDH totale fără a influenţa semnificativ creşterea $LDH_{1-2}$. Imuheptinul şi imupurinul, deşi nu preîntâmpină creşterea activităţii LDH totale, spre deosebire de lotul de control, modifică raportul $LDH_{1-2}$/LDH spre prevalarea fracţiilor musculare (cardiace, musculaturii striate) în termenele precoce ale afecţiunii ischemice. După 2 săptămâni de administrare a preparatelor entomologice activitatea enzimelor studiate nu suferea modificări esenţiale, dar se constata restabilirea raportului $LDH_{1-2}$/LDH la nivelul lotului intact. Putem presupune că dacă fenilefrina produce modificări ischemice ale ficatului, cordului, relevate prin creşterea atât a LDH totale, cât şi a $LDH_{1-2}$, atunci preparatele entomologice pot preveni dereglările cauzate de vasoconstricţia alfa-adrenergică la nivelul ficatului, fără a influenţa astfel de modificări din partea cordului, musculaturii scheletice, îndeosebi în termenele precoce (7 zile). În termenele tadive preparatele cercetate tind să reducă activitatea LDH şi $LDH_{1-2}$, precum şi a raportului $LDH_{1-2}$/LDH. În condiţiile afecţiunii ischemice, induse de fenilefrină, entoheptinul manifesta o acţiune protectoare mai superioară faţă de imuheptin şi imupurin.

Lactatdehidrogenaza, ca o enzimă citoplasmatică, concomitent cu transaminazele, reprezintă un indicator al integrităţii hepatocitelor şi se poate constata o corelaţie între conţinutul ei în sânge şi ficat. În cazul modelării leziunii hepatice ischemice prin fehilefrină peste 7 şi 14 zile s-a relevat o diminuare a nivelului LDH în ficat de la 3931 ± 159 până la 2220 ± 446 U/l ($P < 0,05$) şi 1019±50 U/l ($P < 0,05$). Concomitent, după cum s-a remarcat în studiile anterioare, s-a constantat o tendinţă de majorare a LDH în ser.

Tratamentul cu entoheptin timp de 7 zile s-a soldat cu o restabilire a conţinutului LDH în ficat, relevat prin IH şi CAH (tab.3.2.4). În acelaşi timp, după 2 săptămâni de utilizare a preparatului entomologic s-a constatat o diminuare a nivelului LDH în ficat în comparaţie cu lotul intact, dar care era de 2 ori mai mare ca în cel de control. În acest caz IH a constituit 97%, iar CAH – 1,43 (tab.3.2.4) Utilizarea imupurinului şi imuheptinului, în afecţiunea hepatică indusă prin fenilefrună, n-a influenţat micşorarea nivelului LDH în ficat nici în termene precoce, nici cele tardive (tab.3.2.4). Datele obţinute corelează cu intensificarea activităţii LDH în ser sub influenţa imuheptinului şi imupurinului (tab.3.2.3).

Analiza rezultatelor obţinute ne permit să remarcăm că majorarea LDH în ser, determinată în mare parte de creşterea $LDH_{1-2}$, este însoţită de reducerea nivelului enzimei în ficat. Entoheptinul în mare parte preîntâmpină efectele fenilefrinei, îndeosebi în termenele precoce, în timp ce imuheptinul şi imupurinul nu influenţează activitatea totală a LDH, dar contribuie la restabilirea raportului dintre $LDH_{1-2}$/LDH la nivelul animalelor intacte.

Studiul activităţii SDH la animalele cu afecţiune hepatică ischemică a demonstrat o creştere a acesteia de la 5,76 ±0,49 până la 10,99± 1,53 U/l

(P<0,001). Administrarea concomitentă a entoheptinului cu fenilefrina timp de 7 zile a preîntâmpinat majorarea activităţii enzimei respective (tab.3.2.5). Acţiune benefică a manifestat şi imupurinul, astfel că activitatea SDH a constituit 6,28±0,57 faţă de 10,99+ 1,53 U/l (P<0,05) la lotul de control cu fenilefrină. Imuheptinul, de asemenea, a redus activitatea SDH după o săptămână de utilizare concomitentă cu alfa-adrenomimeticul. Capacitatea preparatelor entomologice de a reduce activitatea SDH în ser s-a materializat şi prin valori importante ale IH şi CAH (tab.3.2.5).

*Tabelul 3.2.4*

**Modificarea conţinutului LDH în ficat, indicelui de hepatoprotecţie (IH) şi coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) la şobolani în afecţiunea hepatică ischemică prin fenilefrină şi tratamentul cu preparatele entomologice**

| Nr. d/o | Grupele de animale | Nr. de animale | LDH U/l | IH (%) | CAH |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Lotul martor | 7 | 3931 ± 159 | | |
| 2 | Fenilefrina 125 mg/kg peste 7 zile | 7 | 2220 ± 446<br>$P_{1-2} > 0,05$ | | |
| 3 | Fenilefrina 125 mg/kg + entoheptin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 4367 ± 259<br>$P_{1-3} > 0,05$<br>$P_{2-3} > 0,05$ | 124 | 0,97 |
| 4 | Fenilefrina 125 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 1667 ± 155<br>$P_{1-4} > 0,05$<br>$P_{2-4} > 0,05$ | -32 | -0,25 |
| 5 | Fenilefrina 125 mg/kg + imupurin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 1503 ± 177<br>$P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{3-5} < 0,05$ | -42 | -0,28 |
| 6 | Fenilefrina 125 mg/kg peste14 zile | 7 | 1019 ± 50<br>$P_{1-6} > 0,05$<br>$P_{2-6} > 0,05$ | | |
| 7. | Fenilefrina 125 mg/kg + entoheptin 50 mg/100g peste 14 zile | 7 | 2474 ± 449<br>$P_{1-7} > 0,05$<br>$P_{6-7} > 0,05$<br>$P_{3-7} > 0,05$ | 50 | 1,43 |
| 8 | Fenilefrina 125 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g peste14 zile | 7 | 933 ± 16<br>$P_{1-8} > 0,05$<br>$P_{6-8} > 0,05$<br>$P_{4-8} > 0,05$ | -3 | -0,08 |
| 9 | Fenilefrina 125 mg/kg + imupurin 50 mg/100g peste 14 zile | 7 | 819 ± 50<br>$P_{1-9} > 0,05$<br>$P_{6-9} > 0,05$<br>$P_{5-9} > 0,05$ | -5 | -0,2 |

La anumalele netratate, peste 14 zile activitatea SDH s-a redus de la 10,99± 1,53 până la 7,58 ± 0,45 U/l (P>0,05) sau cu 69%. Utilizarea entoheptinului timp de 2 săptămâni a contribuit la o micşorare a activităţii SDH în ser faţă de lotul de control, relevată prin valori moderate ale IH şi CAH (tab.3.2.5). Tratamentul cu imuheptin şi imupurin a contribuit la normalizarea activităţii SDH în ser fapt confirmat şi prin valori mai importante ale IH şi CAH (tab.3.2.5).

Analiza rezultatelor obţinute denotă că preparatele entomologice în termenele precoce preîntâmpină majorarea, iar în cele tardive contribuie la normalizarea activităţii SDH în ser, enzimă oxidativă citoplasmatică, specifică pentru leziunile hepatice acute.

*Tabelul 3.2.5*

**Modificările activităţii SDH în ser, indicelui de hepatoprotecţie (IH) şi coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) la şobolani în afecţiunea hepatică ischemică prin fenilefrină şi tratamentul cu preparatele entomologice**

| Nr. d/o | Grupele de animale | Nr. de animale | SDH U/l | IH (%) | CAH |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Lotul intact | 7 | 5,76 ±0,49 | | |
| 2 | Fenilefrina 125 mg/kg peste 7 zile | 7 | 10,99+ 1,53<br>$P_{1-2}<0,05$ | | |
| 3 | Fenilefrina 125 mg/kg + entoheptin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 6,21±0,4<br>$P_{1-3}>0,05$<br>$P_{2-3}<0,05$ | 91 | 0,77 |
| 4 | Fenilefrina 125 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g 7 zile | 6 | 7,73±0,93<br>$P_{1-4}>0,05$<br>$P_{2-4}>0,05$ | 63 | 0,42 |
| 5 | Fenilefrina 125 mg/kg + imupurin 50 mg/100g 7 zile | 6 | 6,28±0,57<br>$P_{1-5}>0,05$<br>$P_{2-5}<0,05$ | 90 | 0,75 |
| 6 | Fenilefrina 125 mg/kg unimomentan peste14 zile | 7 | 7,58 ± 0,45<br>$P_{1-5}>0,05$<br>$P_{2-5}>0,05$ | | |
| 7 | Fenilefrina 125 mg/kg + entoheptin 50 mg/100g peste 14 zile | 7 | 6,55±0,54<br>$P_{1-7}>0,054$<br>$P_{3-7}>0,05$<br>$P_{6-7}>0,05$ | 57 | 0,16 |
| 8 | Fenilefrina 125 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g peste14 zile | 7 | 4,95±0,58<br>$P_{1-8}>0,05$<br>$P_{4-8}<0,05$<br>$P_{6-8}>0,05$ | 144 | 0,53 |
| 9 | Fenilefrina 125 mg/kg + imupurin 50 mg/100g peste 14 zile | 7 | 5,53±0,88<br>$P_{1-9}>0,05$<br>$P_{5-9}>0,05$<br>$P_{6-9}>0,05$ | 112 | 0,37 |

Modelarea afecţiunii hepatice ischemice prin fenilefrină s-a soldat cu dezvoltarea peste 7 zile a unui sindrom uşor-moderat de citoliză (majorarea de 1,2 ori a AsAT, de 1,6 ori a AlAT, de 1,9 ori a SDH şi de 1,16 ori a LDH) confirmat şi prin reducerea conţinutului transaminazelor şi LDH în ficat. Entoheptinul a manifestat cea mai importantă acţiune hepatoprotectoare, îndeosebi la utilizarea timp de 7 zile, relevată prin diminuarea activităţii enzimelor cercetate în ser şi menţinerea nivelului lor în ficat. Imupurinul şi imuheptinul au determinat a activitate hepatoprotectoare moderată, îndeosebi în prima săptămână de tratament, prin capacitatea de a micşora activitatea AlAT şi SDH, enzime caracteristice afectării membranelor hepatocitelor. Influenţarea mai puţin importantă a activităţii AsAT, LDH, $LDH_{1-2}$ posibil, este determinată de acţiunea alfa-adrenomimeticului asupra cordului şi musculaturii striate.

De rând cu parametrii sindromului de citoliză s-au studiat şi markerii celui de colestază (FAl şi GGTP). Administrarea fenilefrinei în doza de 125 mg/kg a contribuit la majorarea activităţii FAl în ser peste 7 zile de la 114,1±11,2 până la 154,0±11,4 nmol/s-l ($P>0,05$), iar peste 14 zile – de la 114,1±11,2 până la183,6±14,3 nmol/s-l ($P<0,05$).

Utilizarea preparatelor entomologice pe parcursul a 7 zile pe fundalul ischemiei fenilefrinice s-a soldat cu intensificarea activităţii FAl în ser, relevată şi prin valori negative ale IH şi CAH (tab.3.2.6). Tratamentul timp de 2 săptămâni cu entoheptin nu a influenţat activitatea FAl în ser în comparaţie cu animalele din lotul de control la a14-a zi, în timp ce imupurinul şi, îndeosebi, imuheptinul creşteau semnificativ activitatea FAl atât faţă de lotul intact, cât şi cel de control (tab.3.2.6).

Activitatea GGTP în ser a crescut peste 7 zile după administrarea dozelor de fenilefrină (tab.3.2.6). Posibil că în acest caz GGTP manifesta o reacţie benefică de epurare a substanţelor metabolice intermediare, formate sub acţiunea alfa-adrenomimeticului.

Tratamentul cu preparatele entomologice în doza de 50 mg/100g timp de o săptămână nu influenţa semnificativ activitatea GGTP în ser, deşi se constata o tendinţă spre diminuarea ei, îndeosebi pentru imupurin, date confirmate prin valori moderate ale IH şi CAH (tab. 3.2.6).

Activitatea GGTP, la animalele din lotul de control după 14 zile, s-a redus faţă de cea la animalele de la a 7-a zi de la 3,86± 0,51 până la 2,83 ± 0,54 nmol/s-l ($P>0,05$). Administrarea entoheptinului şi imuheptinului timp de 2 săptămâni s-a soldat practic cu normalizarea activităţii GGTP în ser. În acest caz IH a constituit respectiv 83% şi 79%, iar CAH – 0,26 şi 0,25. În aceste condiţii tratamentul cu imupurin n-a influenţat efectul alfa-adrenomimeticului (tab.3.2.6).

Analizând modificările activităţii FAl şi GGTP în ser la şobolani la modelarea afecţiunii ischemice prin fenilefrină putem conchide că la animalele experimentale se dezvoltă un sindrom moderat de colestază la a 7-a zi cu o reducere neesenţială a intensităţii lui peste 14 zile, urmărind evoluţia FAl şi GGTP. În conformitate cu datele literaturii, GGTP se consideră o enzimă mai specifică ficatului decât FAl, ultima putând avea şi o altă geneză (osoasă, intestinală), prin ischemia acestor organe determinată de alfa-adrenomimetic. Aceste sugestii parţial sunt confirmate prin influenţa benefică, îndeosebi a entoheptinului şi imuheptinului, preponderent asupra activităţii GGTP. Normalizarea activităţii GGTP în termenele tardive se poate explica prin ameliorarea sindromului de citoliză la tratament cu entoheptin şi imuheptin.

Studiul conţinutului FAl în ficat nu a relevat o micşorare a acestuia peste 7 şi 14 zile după modelarea afecţiunii ischemice a ficatului prin fenilefrină respectiv de la 18,0±0,9 până la 16,0±0,5 nmol/s-g şi 16,4 ± 1,0 nmol/s-g (P>0,05).

Utilizarea entoheptinului timp de o săptămână a contribuit la creşterea nivelului FAl în ficat în comparaţie cu lotul de control de la 16,0 ± 0,5 până 18,3± 0,6 nmol/s-g (P>0,05). La folosirea imuheptinului timp de 7 zile s-a constatat o menţinere parţială

*Tabelul 3.2.6*

**Modificările conţinutului FAl şi GGT în ser, indicelui de hepatoprotecţie (IH) şi coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) la şobolani în afecţiunea hepatică ischemică prin fenilefrină şi tratamentul cu preparatele entomologice**

| Nr. d/o | grupele | Nr. de animale | FAl nmol/s-l | IH (%) | CAH | GGTP, nmol/s-l | IH % | CAH |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Lotul intact | 7 | 114,1±11,2 | | | 2,12 ±0,35 | | |
| 2 | Fenilefrina 125 mg/kg peste 7 zile | 7 | 154,0±11,4<br>$P_{1-2}>0,05$ | | | 3,86± 0,51<br>$P_{1-2}<0,05$ | | |
| 3 | Fenilefrina 125 mg/kg + entoheptin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 231,7±13,6<br>$P_{1-3}<0,05$<br>$P_{2-3}<0,05$ | -194 | -0,34 | 3,55±0,98<br>$P_{1-3}<0,05$<br>$P_{2-3}>0,05$ | 18 | 0,09 |
| 4 | Fenilefrina 125 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g 7 zile | 6 | 268,3±15,7<br>$P_{1-4}<0,05$<br>$P_{2-4}<0,05$ | -285 | -0,43 | 3,23±0,94<br>$P_{1-4}>0,05$<br>$P_{2-4}>0,05$ | 37 | 0,19 |
| 5 | Fenilefrina 125 mg/kg + imupurin 50 mg/100g 7 zile | 6 | 262,2+15,6<br>$P_{1-5}<0,05$<br>$P_{2-5}<0,05$ | -270 | -0,41 | 3,17±1,07<br>$P_{1-5}>0,05$<br>$P_{2-5}>0,05$ | 40 | 0,22 |
| 6 | Fenilefrina 125 mg/kg peste14 zile | 7 | 183,6±14,3<br>$P_{1-6}<0,05$<br>$P_{2-6}>0,05$ | | | 2,83 + 0,54<br>$P_{1-5}>0,05$<br>$P_{2-5}>0,05$ | | |
| 7 | Fenilefrina 125 mg/kg + entoheptin 50 mg/100g peste 14 zile | 7 | 181,1±34,6<br>$P_{1-7}>0,05$<br>$P_{3-7}>0,05$<br>$P_{6-7}>0,05$ | 4 | 0,01 | 2,24±0,63<br>$P_{1-7}>0,054$<br>$P_{3-7}>0,05$<br>$P_{6-7}>0,05$ | 83 | 0,26 |
| 8 | Fenilefrina 125 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g peste14 zile | 7 | 334,1±20,2<br>$P_{1-8}<0,05$<br>$P_{4-8}<0,05$<br>$P_{6-8}>0,05$ | -201 | -0,45 | 2,27±0,7<br>$P_{1-8}>0,05$<br>$P_{4-8}>0,05$<br>$P_{6-8}>0,05$ | 79 | 0,25 |
| 9 | Fenilefrina 125 mg/kg + imupurin 50 mg/100g peste 14 zile | 7 | 231,6±22,3<br>$P_{1-9}<0,05$<br>$P_{5-9}>0,05$<br>$P_{6-9}>0,05$ | -69 | -0,21 | 2,96±0,62<br>$P_{1-9}>0,05$<br>$P_{5-9}>0,05$<br>$P_{6-9}>0,05$ | -19 | -0,04 |

a conţinutului FAl în ficat (tab.3.2.7). În acelaşi timp, administrarea imupurinului timp de o săptămână nu a modificat conţinutul FAl în ficat la animalele cu afecţiune hepatică ischemică. Utilizarea preparatelor entomologice timp de 14 zile pe fundalul afecţiunii ischemice a ficatului n-a preîntâmpinat micşorarea nivelului FAl în ficat. Aceste efecte sunt confurmate prin valorile IH şi CAH (tab.3.2.7).

La modelarea afecţiunii toxice a ficatului prin fenilefrină, conţinutul GGTP în ficat, s-a micşorat de la 9,4±0,3 până la 7,7 ± 0,3 peste 7 zile şi 7,9 ± 1,3 nmol/s-g (P > 0,05) peste14 zile de studiu.

Administrarea entoheptinului, imuheptinului şi imupurinului s-a soldat cu o tendinţă de majorare a GGTP în ficat peste 7 zile şi practic cu o restabilire la nivelul

*Tabelul 3.2.7*

**Modificările conţinutului FAl şi GGTP în ficat, indicelui de hepatoprotecţie (IH) şi coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) la şobolani în afecţiunea hepatică ischemică prin fenilefrină şi tratamentul cu preparatele entomologice**

| Nr. d/o | Grupele de animale | Nr. de animale | FAl nmol/s-g | IH (%) | C A H | GGTP. nmol/s-g | IH (%) | C A H |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Lotul martor | 7 | 18,0 ±0,9 | | | 9,4 ±1,3 | | |
| 2 | Fenilefrina 125 mg/kg peste 7 zile | 7 | 16,0 ± 0,5<br>$P_{1-2} > 0,05$ | | | 7,7+0,3<br>$P_{1-2} > 0,05$ | | |
| 3 | Fenilefrina 125 mg/kg + entoheptin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 18,3± 0,6<br>$P_{1-3} > 0,05$<br>$P_{2-3} > 0,05$ | 115 | 0,14 | 8,9 +0,9<br>$P_{1-3} > 0,05$<br>$P_{2-3} > 0,05$ | 70 | 0,16 |
| 4 | Fenilefrina 125 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 17,3 ±0,4<br>$P_{1-4} > 0,05$<br>$P_{2-4} < 0,05$ | 65 | 0,08 | 8,5 ±0,6<br>$P_{1-4} > 0,05$<br>$P_{2-4} > 0,05$ | 47 | 0,1 |
| 5 | Fenilefrina 125 mg/kg + imupurin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 16,1 + 0,8<br>$P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{2-5} > 0,05$ | 5 | 0,01 | 9,2 ± 0,9<br>$P_{1-5} > 0,05$<br>$P_{3-5} < 0,05$ | 88 | 0,19 |
| 6 | Fenilefrina 125 mg/kg peste14 zile | 7 | 16,4 ± 1,0<br>$P_{1-6} > 0,05$<br>$P_{2-6} > 0,05$ | | | 7,9 + 1,3<br>$P_{1-6} > 0,05$<br>$P_{2-6} > 0,05$ | | |
| 7 | Fenilefrina 125 mg/kg + entoheptin 50 mg/100g peste 14 zile | 7 | 16,4± 0,7<br>$P_{1-7} > 0,05$<br>$P_{6-7} > 0,05$<br>$P_{3-7} > 0,05$ | 0 | 0 | 9,9 ± 0,6<br>$P_{1-7} > 0,05$<br>$P_{6-7} > 0,05$<br>$P_{3-7} > 0,05$ | 133 | 0,25 |
| 8 | Fenilefrina 125 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g peste14 zile | 7 | 16,3 ± 0,5<br>$P_{1-8} > 0,05$<br>$P_{6-8} > 0,05$<br>$P_{4-8} > 0,05$ | 0,6 | 0 | 8,5 + 1,0<br>$P_{1-8} > 0,05$<br>$P_{6-8} > 0,05$<br>$P_{4-8} > 0,05$ | 40 | 0,08 |
| 9 | Fenilefrina 125 mg/kg + imupurin 50 mg/100g peste 14 zile | 7 | 16,4 ± 0,8<br>$P_{1-9} > 0,05$<br>$P_{5-9} > 0,05$<br>$P_{6-9} > 0,05$ | 0 | 0 | 9,2 ± 1,6<br>$P_{1-9} > 0,05$<br>$P_{5-9} > 0,05$<br>$P_{6-9} > 0,05$ | 70 | 0,16 |

animalelor lotului martor peste 14 zile (tab.3.2.7). Acest efect se asocia cu normalizarea conţinutului GGTP în ser în termenele tardive. În aceste condiţii entoheptinul determina cele mai importante valori ale IH (133%) şi CAH (0,25).

Astfel, cercetările experimentale au demonstrat că alfa-adrenomimeticul fenilefrina provoacă o diminuare a AlAT, AsAT, LDH, FAl şi GGTP în ficat peste 7 şi 14 zile cu o majorare concomitentă a lor în ser. Preparatele entomologice contribuiau la o anihilare parţială a dereglărilor survenite, îndeosebi faţă de AlAT şi GGTP, la o utilizare timp de 2 săptămâni.

În afecţiunile hepatice pot surveni un şir de perturbări metabolice cauzate de factorii etiologici şi/sau de dezvoltarea unor mecanisme compensatorii, îndreptate spre menţinerea statutului metabolic al hepatocitelor. Cu acest scop s-au studiat modificările concentraţiei glucozei, colesterolului total, proteinelor totale, ureei şi creatininei în sânge la animalele cu afecţiune ischemică a ficatului şi utilizarea preparatelor entomologice.

La animalele experimentale, după administrarea intraperitoneală a fenilefrinei în doza sumară de 125 mg/kg, s-au depistat modificări esenţiale ale nivelului glucozei în ser (tab.3.2.8). Putem menţiona că atât după 7 zile, cât şi după 14 zile după injectarea vasoconstrictorului se constata o hiperglicemie (de la 5,37±0,24 la 6,61±0,19; $P<0,05$ şi respectiv de la 5,37±0,24 la 5,95±0,12 $P<0,05$).

Tratamentul şobolanilor cu afecţiune ischemică hepatică cu preparate entomologice a determinat o hiperglicemie faţă de lotul intact, dar fără modificări esenţiale ale nivelului glucozei în ser în comparaţie cu loturile de control (tab.3.2.8). Entoheptinul, administrat în doza de 50 mg/100g intern timp de 7 zile, a cauzat o hipoglicemie uşoară faţă de lotul de control şi o tendinţă spre hiperglicemie după 14 zile de utilizare în comparaţie cu animalele netratate (lotul 6). În acelaşi timp, imuheptinul în dozele de 50 mg/100g micşora neesenţial conţinutul glucozei în ser după 7 zile faţă de animalele cărora li se administra numai fenilefrină, dar provoca o hiperglicemie în comparaţie cu acestea după 14 zile de utilizare. Imupurinul, pe fundalul ischemiei hepatice indusă de fenilefrină, a manifestat o tendinţă spre creşterea nivelului glucozei faţă de lotul de control atât după o săptămână, cât şi după 2 săptămâni (tab.3.2.8). Modificările neesenţiale ale glicemiei la tratamentul cu preparatele entomologice a animalelor cu afecţiune hepatică ischemică sunt confirmate prin valorile CAH. Astfel, putem conchide că fenilefrina induce o hiperglicemie cauzată, probabil, de stimularea alfa-adrenoreceptorilor din ficat, precum şi prin ischemia determinată de vasoconstricţia vaselor hepatice. Acest efect este mai marcat în termenele precoce, peste 2 săptămâni nivelul glucozei se micşora vădit în comparaţie cu cifrele după 7 zile, dar era superior faţă de lotul intact. Rezultatele căpătate denotă că substanţele cercetate nu exercitau influenţe semnificative asupra glicemiei, deşi dinamica ei ne poate sugera unele ipoteze despre caracterul adaptiv al hepatocitelor şi organismului îndreptate spre anihilarea perturbărilor metabolismului energetic şi metabolic, inclusiv prin modificarea nivelului glucozei, ca cel mai accesibil substrat energetic în organism.

*Tabelul 3.2.8*

**Modificările conţinutului glucozei şi colesterolului în sânge, coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) la şobolani în afecţiunea hepatică ischemică prin fenilefrină şi tratamentul cu preparatele entomologice**

| Nr. d/o | Grupele | Nr. de animale | Glucoza mmol/l | CAH | Colesterolul total mmol/l | CAH |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Lotul intact | 7 | 5,37±0,24 | | 2,16±0,08 | |
| 2 | Fenilefrina 125 mg/kg peste 7 zile | 7 | 6,61±0,19<br>$P_{1-2}<0,05$ | | 1,98 ± 0,07<br>$P_{1-2}>0,05$ | |
| 3 | Fenilefrina 125 mg/kg + entoheptin 50 mg/100g 7 zile | 6 | 6,43±0,13<br>$P_{1-3}<0,05$<br>$P_{2-3}>0,05$ | 0,03 | 1,93±0,11<br>$P_{1-3}>0,05$<br>$P_{2-3}>0,05$ | -0,04 |
| 4 | Fenilefrina 125 mg/8kg + imuheptin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 6,38±0,17<br>$P_{4}<0,05$<br>$P_{2-4}>0,05$ | 0,04 | 2,23±0,08<br>$P_{1-4}>0,05$<br>$P_{2-4}<0,05$ | 0,13 |
| 5 | Fenilefrina 125 mg/kg + imupurin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 6,9 ±0,17<br>$P_{1-5}<0,05$<br>$P_{2-5}>0,05$ | -0,04 | 2,0±0,07<br>$P_{1-5}>0,05$<br>$P_{2-5}>0,05$ | 0,01 |
| 6 | Fenilefrina 125 mg/kg unimomentan peste14 zile | 7 | 5,95±0,12<br>$P_{1-6}<0,05$<br>$P_{2-6}<0,05$ | | 2,24+0,18<br>$P_{1-5}>0,05$<br>$P_{2-5}>0,05$ | |
| 7 | Fenilefrina 125 mg/kg + entoheptin 50 mg/100g peste 14 zile | 7 | 6,04+0,36<br>$P_{1-7}>0,05$<br>$P_{3-7}>0,05$<br>$P_{6-7}>0,05$ | 0,01 | 2,26±0,18<br>$P_{1-7}>0,05$<br>$P_{3-7}>0,05$<br>$P_{6-7}>0,05$ | -0,01 |
| 8 | Fenilefrina 125 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g peste 14 zile | 7 | 6,8±0,12<br>$P_{1-8}<0,05$<br>$P_{4-8}>0,05$<br>$P_{6-8}<0,05$ | 0,14 | 1,61±0,09<br>$P_{1-8}<0,05$<br>$P_{4-8}<0,05$<br>$P_{6-8}<0,05$ | 0,39 |
| 9 | Fenilefrina 125 mg/kg + imupurin 50 mg/100g peste 14 zile | 7 | 6,51±0,33<br>$P_{1-9}<0,05$<br>$P_{5-9}>0,05$<br>$P_{6-9}>0,05$ | 0,09 | 1,97±0,08<br>$P_{1-9}>0,05$<br>$P_{5-9}>0,05$<br>$P_{6-9}>0,05$ | 0,14 |

La şobolani după administrarea intraperitoneală a fenilefrinei în doza sumară de 125 mg/kg s-a constatat o micşorare nesemnificativă a nivelului colesterolului total în ser după 7 zile, iar după 14 zile o tendinţă spre hipercolesterolemie (tab.3.2.8). O dinamică similară, faţă de lotul intact, acest parametru avea şi după utilizarea entoheptinului timp de 7 şi 14 zile. În acelaşi timp substanţa dată nu influenţa asupra efectelor fenilefrinei în termenele studiate. Imupurinul pe fundalul dozelor toxice ale alfa-adrenomimeticului practic nu influenţa nivelul colesterolului total după 7 zile de utilizare faţă de lotul numai cu fenilefrină. După 2 săptămâni de administrare preparatul anihila tendinţa spre hipercolesterolemie indusă de fenilefrină. La administrarea imuheptinului în doza de 50 mg/100g timp de o săptămână s-a constatat o hipercolesterolemie faţă de lotul de control în aceleaşi termene de studiu, urmând ca după 14 zile de folosire să se depisteze o hipocolesterolemie atât faţă de lotul cu fenilefrină, cât şi cel intact. Concomitent nivelul colesterolului era micşorat şi în comparaţie cu animalele cărora li s-a administrat imuheptin numai 7 zile. Astfel, putem constata că dacă imupurinul avea un efect stabil asupra colesterolemiei indusă de alfa-adrenomimetic, atunci entoheptinul şi imuheptinul manifestau influenţe diametral opuse atât după 7, cât şi după 14 zile de utilizare, efecte reflectate şi prin valorile CAH.

La determinarea nivelului proteinelor totale, după injectarea intraperitoneală a fenilefrinei în doză sumară de 125 mg/kg, peste 7 şi 14 zile s-a constatat o hiperproteinemie (tab.3.2.9). La utilizarea preparatelor entomologice timp de o săptămână în dozele de 50 mg/100g conţinutul proteinelor totale era majorat faţă de animalele intacte, iar entoheptinul intensifica hiperproteinemia indusă de acţiunea alfa-adrenomimeticului (tab.3.2.9).

*Tabelul 3.2.9*

**Modificările conţinutului proteinelor totale în sânge, coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) la şobolani în afecţiunea hepatică ischemică prin fenilefrină şi tratamentul cu preparatele entomologice**

| Nr. d/o | Grupele | Numărul de animale | Proteinele totale, g/l | CAH |
|---|---|---|---|---|
| 1 | Lotul intact | 7 | 69,6 ±1,3 | |
| 2 | Fenilefrina 125 mg/kg peste 7 zile | 7 | 82,7± 3,6<br>$P_{1-2}<0,05$ | |
| 3 | Fenilefrina 125 mg/kg + entoheptin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 93,7+2,0<br>$P_{1-3}<0,05$<br>$P_{2-3}<0,05$ | 0,13 |
| 4 | Fenilefrina 125 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g 7 zile | 6 | 91,2±2,8<br>$P_{1-4}<0,05$<br>$P_{2-4}>0,05$ | 0,1 |
| 5 | Fenilefrina 125 mg/kg + imupurin 50 mg/100g 7 zile | 6 | 91,0±1,7<br>$P_{1-5}<0,05$<br>$P_{2-5}>0,05$ | 0,1 |
| 6 | Fenilefrina 125 mg/kg peste14 zile | 7 | 90,9±2,9<br>$P_{1-5}<0,05$<br>$P_{2-5}>0,05$ | |
| 7 | Fenilefrina 125 mg/kg + entoheptin 50 mg/100g peste 14 zile | 7 | 89,3+3,1<br>$P_{1-7}<0,054$<br>$P_{3-7}>0,05$<br>$P_{6-7}>0,05$ | 0,02 |
| 8 | Fenilefrina 125 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g peste14 zile | 7 | 87,5±1,9<br>$P_{1-8}<0,05$<br>$P_{4-8}>0,05$<br>$P_{6-8}>0,05$ | 0,04 |
| 9 | Fenilefrina 125 mg/kg + imupurin 50 mg/100g peste 14 zile | 7 | 93,6+3,2<br>$P_{1-9}<0,05$<br>$P_{5-9}>0,05$<br>$P_{6-9}>0,05$ | -0,03 |

După 14 zile de la administrarea fenilefrinei nivelul proteinelor totale se majora atât în comparaţie cu animalele intacte, cât şi cu lotul cu fenilefrină după 7 zile. Preparatele entomologice după 2 săptămâni de utilizare în dozele de 50 mg/100g practic nu influenţau asupra hiperproteinemiei induse de alfa-adrenomimetic, date confirmate şi prin valorile CAH (3.2.9).

După administrarea intraperitoneală a fenilefrinei, în doza sumară de 125 mg/kg, peste 7 zile în lotul de control s-a constatat o creştere nesemnificativă a conţinutului ureei în ser (tab.3.2.10). După utilizarea preparatelor entomologice, pe fundalul alfa-adrenomimeticului, timp de 7 zile s-a determinat o diminuare neesenţială a nivelului ureei faţă de lotul de control, dar care la entoheptin şi imuheptin erau mai inferioare chiar şi în comparaţie cu animalele intacte. În aceste condiţii s-au relevat şi valori importante ale CAH.

*Tabelul 3.2.10*

**Modificările conţinutului ureei şi creatininei în ser, coeficientului de activitate hepatoprotectoare (CAH) la şobolani în afecţiunea hepatică ischemică prin fenilefrină şi tratamentul cu preparatele entomologice**

| Nr. d/o | Grupele | Nr de animale | Ureea, mmol/l | CAH | Creatinina, mmol/l | CAH |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Lotul intact | 7 | 5,03+0,53 | | 81,2+5,8 | |
| 2 | Fenilefrina 125 mg/kg peste 7 zile | 7 | 6,54+1,07<br>$P_{1-2}>0,05$ | | 93,3 + 4,4<br>$P_{1-2}>0,05$ | |
| 3 | Fenilefrina 125 mg/kg + entoheptin 50 mg/100g 7 zile | 7 | 4,58+0,27<br>$P_{1-3}>0,05$<br>$P_{2-3}>0,05$ | 0,43 | 87,9±7,4<br>$P_{1-3}>0,05$<br>$P_{2-3}>0,05$ | 0,06 |
| 4 | Fenilefrina 125 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g 7 zile | 6 | 4,53±0,28<br>$P_{1-4}>0,05$<br>$P_{2-4}>0,05$ | 0,44 | 86,8±3,6<br>$P_{1-4}>0,05$<br>$P_{2-4}>0,05$ | 0,07 |
| 5 | Fenilefrina 125 mg/kg + imupurin 50 mg/100g 7 zile | 6 | 6,0+0,29<br>$P_{1-5}>0,05$<br>$P_{2-5}>0,05$ | 0,09 | 90,0±5,4<br>$P_{1-5}>0,05$<br>$P_{2-5}>0,05$ | 0,04 |
| 6 | Fenilefrina 125 mg/kg peste14 zile | 7 | 5,88±0,82<br>$P_{1-6}>0,05$<br>$P_{2-6}>0,05$ | | 87,2±3,1<br>$P_{1-5}>0,05$<br>$P_{2-5}>0,05$ | |
| 7 | Fenilefrina 125 mg/kg + entoheptin 50 mg/100g peste 14 zile | 7 | 5,03+0,63<br>$P_{1-7}>0,05$<br>$P_{3-7}>0,05$<br>$P_{6-7}>0,05$ | 0,17 | 83,1±2,2<br>$P_{1-7}>0,05$<br>$P_{3-7}>0,05$<br>$P_{6-7}>0,05$ | 0,05 |
| 8 | Fenilefrina 125 mg/kg + imuheptin 50 mg/100g peste14 zile | 7 | 4,53+0,27<br>$P_{1-8}>0,05$<br>$P_{4-8}>0,05$<br>$P_{6-8}>0,05$ | 0,3 | 88,2+11,2<br>$P_{1-8}>0,05$<br>$P_{4-8}>0,05$<br>$P_{6-8}>0,05$ | -0,01 |
| 9 | Fenilefrina 125 mg/kg + imupurin 50 mg/100g peste 14 zile | 7 | 4,63±0,27<br>$P_{1-9}>0,05$<br>$P_{5-9}>0,05$<br>$P_{6-9}>0,05$ | 0,27 | 101,7±10,0<br>$P_{1-9}>0,05$<br>$P_{5-9}>0,05$<br>$P_{6-9}>0,05$ | -0,14 |

Concentraţia ureei, la şobolanii cu afecţiune hepatică ischemică, peste 2 săptămâni rămânea la niveluri mai superioare faţă de lotul intact (5,88±0,82 în comparaţie cu 5,03±0,53 g/l; $P>0,05$). Substanţele cercetate reduceau nesemnificativ conţinutul ureei la nivelul sau chiar sub valorile la animalele intacte (tab.3.2.10).

Modelarea afecţiunii ischemice a ficatului s-a soldat cu o creştere a nivelului creatininei în ser de la 81,2±5,8 până la 93,3 ± 4,4 mmol/l ($P>0,05$) peste 7 zile şi 87,2±3,1 mmol/l peste 14 zile. Posibil, acest efect este cauzat de vasoconstricţia renală cu diminuarea eliminării metabolitului azotat. Tratamentul cu preparatele entomologice timp de o săptămână a determinat o reducere nesemnificativă (confirmată şi prin valorile mici ale CAH) a concentraţiei creatininei în comparaţie cu lotul de control. Entoheptinul şi imuheptinul practic nu au inflenţat nivelul creatininei în ser, iar imupurinul l-a majorat neesenţial, în comparaţie cu lotul de control (tab.3.2.10).

Parametrii metabolismului proteic determinaţi denotă o hiperproteinemie şi o tendinţă de creştere a ureei şi creatininei la animalele pretratate cu alfa-adrenomimetic. Aceasta, posibil, indică la o scindare mai intensă a proteinelor, la micşorarea eliminării produselor azotate, cauzată de ischemia renală. Substanţele cercetate nu influenţau semnificativ asupra nivelului proteinelor totale, ureei şi creatininei. Totuşi am menţiona că acestea diminuau concentraţia ureei şi, mai puţin a creatininei, posibil, prin accelerarea eliminării metaboliţilor azotaţi.

Afecţiunea hepatică ischemică, indusă prin fenilefrină, se caracteriza printr-un sindrom uşor de citoliză, colestază şi insuficienţă hepatocelulară, în comparaţie cu cea toxică, provocată de paracetamol. Creşterea modestă a activităţii enzimelor în ser, posibil, este determinată de fenomenul de precondiţionare (ischemie preventivă), relevat în cazurile ulterioare de ischemie/reperfuzie, care denotă că la producerea unei ischemii de scurtă durată înainte de ischemia propriu-zisă, creşte rezistenţa animalelor la ea. În cazul administrării fracţionate (doze treptat crescânde – 10; 15 şi 20 mg/kg) şi repetate (timp de 7 zile) a fenilefrinei, cel mai probabil, se dezvoltă unele mecanisme compensator-adaptive ce limitează consecinţele vasoconstricţiei sistemice, indusă de alfa-adrenomimetic, în bazinele mezenterial, renal, al pielii şi mucoaselor. Posibil, din aceste considerente la a 7-a zi manifestările sindroamelor respective sunt de grad uşor.

Utilizarea cu scop curativ a preparatelor entomologice a contribuit la ameliorarea manifestărilor hepatice ale sindromului de ischemie/reperfuzie (diminuarea mai esenţială a activităţii AlAT, LDH, SDH, GGTP în ser cu restabilirea conţinutului AsAT, AlAT, GGTP în ficat), efecte relevate şi prin valori importante ale CAHS (tab. 3.2.11). Posibil, fenilefrina induce preponderent un proces inflamator, manifestat prin creşterea permeabilităţii membranelor celulalre cu ieşirea preponderentă a enzimelor citoplasmatice (AlAT, SDH, LDH, GGTP). Aceste fenomene sunt caracteristice perioadei tardive a sindromului de ischemie/reperfuzie (după a 7-a zi), în timp ce în faza acută (cu maximul a 3-a zi) se dezvoltă stresul oxidativ, care favorizează ulterior activarea celulelor non-parenchimatoase (celulelor Kupffer, celulelor endoteliale etc.) cu eliberarea citochinelor, chemochinelor şi migrarea leucocitelor, responsabile de exacerbarea procesului inflamator. Acţiunea benefică a preparatelor entomologice, preponderent în faza acută a afecţiunii ischemice, posibil, poate fi determinată de anihilarea stresului oxidativ (prin antioxidanţii hidrosolubili ce îi conţin) şi amplificarea potenţialului energetic al hepatocitelor (prin aportul de lipide, proteine, glucide). Creşterea statutului energetic al hepatocitelor poate fi explicat şi prin acţiunea modulatoare asupra parametrilor metabolismului glucidic, lipidic şi proteic.

Reducerea fluxului hepatic, de diferit grad şi durată, este urmată de o reperfuzie, stare în care se includ un şir de mecanisme responsabile de leziuni ale organelor şi sistemelor, care deseori pot avea consecinţe mai negative decât însăşi ischemia. Din aceste considerente, deseori se utilizează termenul de ischemie/reperfuzie. Reoxigenarea sau reperfuzia unui ţesut ischemic, inclusiv şi a ficatului, este asociată cu afecţiuni suplimentare ce duc la alterări structurale şi funcţionale în mai multe organe, care prezintă o problemă importantă în medicina practică. Mecanismele alterărilor funcţionale şi patologice, induse de reperfuzie, sunt intensiv studiate, dar rezultatele sunt contradictorii. Unele studii sugerează că reoxigenarea ţesutului ischemic (hipoxic) stimulează dezvoltarea stresului oxidativ cu consecinţele respective, iar alte cercetări demonstrează că ficatul este rezistent la evenimentele induse de ischemie/reperfuzie. Afecţiunile declanşate de ischemie/reperfuzie pot fi determinate de următoarele mecanisme: creşterea concentraţiei calciului în celule; generarea de specii reactive ale oxigenului (SRO) şi azotului (SRN) cu iniţierea stresului oxidativ şi proceselor POL; inhibarea activităţii enzimelor antioxidante; activarea fosfolipolizei; disfuncţia mitocondriilor cu reducerea statutului energetic; activarea celulelor Kupffer şi complementului (Romanque U.P. et al., 2005, Glantzounis G.K. et al., 2005, Hossein Ali Arab et al., 2009, Korontzi M.I.et al., 2010, Henrion J., 2011, Маслова И.Ю., 2007, Андреева Н.Н. и др., 2009, Николаев С.Б.и др.,2010, Бежин А.И., Перьков А.А., 2010, Николаев С.Б., 2011).

Creşterea nivelului calciului se consideră unul din mecanismele importante în cazul ischemiei de diferită origine. Studiile experimentale au demonstrat că fenilefrina, în cultura de hepatocite, în concentraţii de 1-3 Mm majora nivelul calciului în citoplasma hepatocitelor. Alfa-adrenomimeticul la o acţiune de 2 min în concentraţia de 2 µm a indus sinteza proteinelor prin sincronizarea hepatocitelor. Efecte similare s-au observat şi în cazul utilizării inhibitorului pompei calcice a reticulului endoplasmatic, ce creşte nivelul calciului printr-un mecanism receptor-independent. Aceste rezultate au permis de a concluziona că modificarea de scurtă durată a concentraţiei calciului în celulă poate influenţa ritmul sintezei proteinelor (Бродский В.Я., 2009).

Majoritatea studiilor experimentale şi clinice demonstrează că în perioada postischemică sau de reperfuzie survin, oarecum paradoxal, cele mai importante perturbări funcţionale şi structurale, responsabile de dezvoltarea inflamaţiei, apoptozei şi necrozei. Sindromul de reperfuzie evoluează prin 2 faze: faza precoce (acută) şi tardivă (subsacută) (Glantzounis G.K. et al., 2005, Hossein Ali Arab et al., 2009, Ярошенко И.Ф., Каланчина Т.Ю., 2006).

Faza acută se declanşează în primele 2-6 ore de la restabilirea circulaţiei şi este asociată cu dereglări hepatocelulare mediate de SRO. Evenimentul principal al acestei faze reprezintă activarea celulelor Kupffer, precum şi a complementului şi CD4+ limfocitelot-T, care intesifică activitatea acestora, relevată prin modificări structurale, formarea SRO vasculare, producerea de citochine (TNF-alfa, interleuchine etc.). Faza subacută sau tardivă se instalează peste 18-24 ore după reperfuzie şi este asociată cu infiltrarea masivă de neutrofile, care declanşează un proces inflamator prin eliberarea substanţelor biologic active (SRO, citochine, chemochine etc.).

*Tabelul 3.2.11*

**Activitatea hepatoprotectoarte (CAH) a preparatelor entomologice asupra sindroamelor hepatice în tratamentul afecţiunii ischemice induse prin fenilefrină**

| Sindromul | parametrii | Fenilefrină 7 zile | | | Fenilefrină 14 zile | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Ento-heptin | Imu-heptin | Imu-purin | Ento-heptin | Imu-heptin | Imu-purin |
| Citoliză | AsAT | 0,12 | -0,01 | -0,05 | 0,05 | 0,04 | 0,11 |
| | AlAT | 0,28 | 0,34 | 0,27 | -0,05 | 0 | 0,09 |
| | LDH | 0,16 | -0,17 | -0,12 | 0,05 | -0,02 | -0,16 |
| | $LDH_{1-2}$ | -0,05 | -0,25 | -0,21 | 0,09 | 0,01 | -0,17 |
| | SDH | 0,77 | 0,42 | 0,75 | 0,16 | 0,53 | 0,37 |
| | **CAHS** | **0,26** | **0,07** | **0,13** | **0,06** | **0,11** | **0,08** |
| Colestază | GGTP | 0,09 | 0,19 | 0,22 | 0,26 | 0,25 | -0,04 |
| | FAl | -0,34 | -0,43 | -0,41 | -0,01 | -0,45 | -0,21 |
| | **CAHS** | **-0,12** | **-0,12** | **-0,1** | **0,13** | **-0,1** | **-0,12** |
| Insuficienţă hepatocelulară | Glucoza | 0,03 | 0,04 | -0,04 | 0,01 | 0,14 | 0,09 |
| | Colesterolul total | -0,04 | 0,13 | 0,01 | -0,01 | 0,39 | 0,14 |
| | Proteinele totale | 0,13 | 0,1 | 0,1 | 0,02 | 0,04 | -0,03 |
| | Ureea | 0,43 | 0,44 | 0,09 | 0,17 | 0,3 | 0,27 |
| | Creatinina | 0,06 | 0,07 | 0,04 | 0,05 | -0,01 | -0,14 |
| | **CAHS** | **0,12** | **0,14** | **0,04** | **0,05** | **0,17** | **0,07** |
| **Modificările nivelului enzimelor în ficat** | | | | | | | |
| Citoliză | AsAT | 0,02 | 0,27 | 0,22 | 0,52 | 0,89 | 0,06 |
| | AlAT | 0,3 | 0,13 | 0,05 | 0,07 | 0,04 | 0,07 |
| | LDH | 0,97 | -0,25 | -0,28 | 1,43 | -0,08 | -0,2 |
| | **CAHS** | **0,43** | **0,05** | **-0, 03** | **0,67** | **0,28** | **-0,02** |
| Colestază | GGTP | 0,16 | 0,1 | 0,19 | 0,25 | 0,08 | 0,16 |
| | FAl | 0,14 | 0,08 | 0,01 | 0 | 0 | 0 |
| | **CAHS** | **0,15** | **0,09** | **0,1** | **0,12** | **0,04** | **0,08** |

Formarea SRO pe parcursul reperfuziei induce o cascadă de fenomene celulare atât în celulele parenchimatoase, cât şi cele non-parenchimatoase. Astfel, deja peste 6-24 ore are loc generarea anionului superoxid ce controbuie la expresia nitroxid sintetazei inductibile (NOSi) prin activarea factorului nuclear chapaB în hepatocite şi celulele Kupffer. Speciile reactive ale oxigenului sunt formate şi de xantinoxidază (XO). Producerea SRO necesită o capacitate înaltă de neutralizare din partea sistemului antioxidant şi, în primul rând, al enzimelor antioxidante (SOD, catalaza, GPx), precum şi a nivelului GSH în ficat. Activarea NOSi contribuie, deja peste 6-24 ore, la creşterea nivelului NO şi posibilitatea de formare a peroxinitritului (ONOO*). Formarea excesivă de SRO se asociază cu creşterea în ser a activităţii AsAT, AlAT, LDH, a nivelului DAM, majorarea infiltratelor inflamatoare în sinusoide, fragmentarea nucleelor, intensificarea apoptozei (Glantzounis G.K. et al., 2005, Hossein Ali Arab et al., 2009, Ярошенко И.Ф., Каланчина Т.Ю., 2006).

Afectarea ficatului în ischemie/reperfuzie este determinată şi de majorarea nivelului citochinelor (IL-1, IL-6, IL-8,IL-13, TNF-alfa etc.) şi chemochinelor. Astfel, deja peste 6-24 ore după reperfuzie creşte producerea de IL-1beta de către celulele Kupffer. Factorul de necroză a tumorii (TNF-alfa) se consideră mediatorul central în răspunsul ficatului la ischemie/reperfuzie. Producerea lui induce expresia moleculelor de adeziune faţă de celulele endoteliale vasculare, activarea neutrofilelor cu producerea chemochinelor atractante, formarea microtrombusurilor. Ulterior are loc acumularea neutrofilelor cu eliberarea de SRO şi proteaze, responsabile de inducerea stresului oxidativ în faza tardivă a sindromului de reperfuzie cu consecinţe cu mult mai severe ca în faza precoce. În sângele arterial şi venos după ischemie/reperfuzie se constată un nivel majorat al IL-6, precum şi al citochinei proinflamatoare - *peroxim proliferator*, care activează alfa-adrenoreceptorii. În acelaşi timp, un rol protector manifestă IL-19 şi IL-13. Ultima micşorează producerea mediatorilor inflamaţiei de către macrofage, reduce expresia TNF-alfa şi proteinei-2 inflamatoare. Efect de protecţie manifestă şi factorul de creştere al hepatocitelor, care preîntâmpină infiltrarea cu leucocite şi activează proliferarea hepatocitelor (Glantzounis G.K. et al., 2005, Hossein Ali Arab et al., 2009, Ярошенко И.Ф., Каланчина Т.Ю., 2006).

Norepinefrina a crescut expresia ARNm a IL-6 în cultura de hepatocite, dar nu în cea de celule non-parenchimatoase. Acest efect a fost inhibat de un alfa-beta-adrenoblocant. Expresia ARNm IL-6 a crescut şi la tratarea culturii de hepatocite cu mediul obţinut din cultura de celule non-parnchimatoase tratată cu norepinefrină. În mediu s-a determinat prezenţa IL-1beta, care, ca şi interleuchina respectivă exogenă, a stimulat expresia ARNm IL-6 (Jung B.D.et al., 2000). Autorii concluzionează că norepinefrina, eliberată din terminaţiile nervoase, în cazul stresului creşte direct expresia ARNm IL-6 în hepatocite şi indirect prin IL-1beta, produsă de celulele non-parenchimatoase ale ficatului.

Stările de urgenţă (sepsisul, şocurile etc.) por fi responsabile de dezvoltarea insuficienţei poliorganice, inclusiv datorită lipopolizaharidelor organismului şi catecolaminelor eliberate. Tratamentul şocului septic impune utilizarea agenţilor vasoactivi, precum catecolaminele exogene sau vasopresina, pentru majorarea tensiunii arteriale. S-a ipotetizat că catecolaminele pot modula răspunsul inflamator al lipopolizaharidelor şi funcţiile ficatului. Hepatocitele primare umane şi celulele hepatomului uman (Hepa RG) au fost expuse acţiunii lipopolizaharidelor cu evaluarea efectelor epinefrinei, norepinefrinei, fenilefrinei, dopaminei, dobutaminei, dopexaminei, clonidinei, salbutamolului şi vasopresinei asupra markerilor inflamaţiei (IL-6, proteina C-reactivă) şi metabolismului (CYP 3A4, 2B6, 2E1, 1A2). S-a constatat creşterea expresiei proteinei C-reactive şi micşorarea expresiei CYP 3A4 peste 24 ore de la expunerea la acţiunea lipopolizaharidelor. Co-tratamentul cu catecolamine n-a putut reversa efectul lipopolizaharidelor, iar epinefrina şi, într-o măsură mai mică, norepinefrina, dobutamina şi salbutamolul imitau efectele acestora. Supresia CYP 3A4 implică receptorii beta-adrenergici şi a fost mediată prin supraproducerea IL-6. Vasopresina, în contrast, n-a produs răspuns inflamator şi n-a modificat expresia CYP 3A4 (Aninat C.et al., 2008). Autorii au concluzionat că catecolaminele pot induce un răspuns inflamator şi exacerba disfuncţiile hepatice în sepsis, susţinând ideea precum că ele pot altera metabolizarea substanţelor prin CYP 3A4, iar vasopresina poate fi un vasopresor de alternativă.

Studiile recente au sugerat că limfocitele-T pot fi importante în afecţiunile hepatice ischemie/reperfuzie de scurtă şi lungă durată, fapt demonstrat prin eficacitatea imunosupresiei sistemice în astfel de patologie. Aderenţa CD4+ limfocitelor-T la sinusoidele hepatice pe parcursul fazei precoce ale reperfuziei este mediată de TNF-alfa şi IL-1. Aceste limfocite-T pot creşte activarea celulelor Kupffer şi pot fi ca mediatori celulari ai acumulării celulelor polimorfonucleare prin eliberarea de substanţe active, precum factorul colonial de stimulare a granulocitelor şi interferonului-gama (Glantzounis G.K. et al., 2005).

Aportul insuficient de oxigen, ca rezultat al reducerii fluxului hepatic sau al hipoxiei de altă geneză, alterează lanţul respirator al mitocondriilor şi statutul redox al enzimelor mitocondriale. Aceasta se manifestă prin inhibarea fosforilării oxidative, iar ca consecinţă reducerea sintezei de energie (ATP). Micşorarea ATP-ului în celule determină dereglări ale translocărilor ionice membranare prin inhibarea $Na^{+}K^{+}$-ATP-azei cu influxul sodiului în celulă ceea ce duce la edemul şi moartea acestora (Glantzounis G.K. et al., 2005).

Acumularea calciului în celule determină dezvoltarea afecţiunilor ischemice şi poate fi un pas crucial de trecere la procese ireversibile. Majorarea calciului în citosol cauzează activarea fosfolipazelor membranelor celulare cu degradarea fosfolipidelor şi formarea de defecte ale membranelor. Creşterea permeabilităţii membranelor celulare poate fi responsabilă de modificări intracelulare precum afectarea mitocondriilor, lizozomilor şi reticulului endoplasmatic, formarea vacuolelor şi neoformaţiunilor, edemul celular şi pierderea moleculelor cu masă moleculară mică. Ionii de calciu pot activa xantinoxidaza, care este responsabilă de producerea SRO în timpul reperfiziei (Glantzounis G.K. et al., 2005).

În cadrul ischemiei lobare, timp de 60 min nu s-au determinat modificări esenţiale ale nivelului ureei şi creatininei, cu o tendinţă de diminuare a nivelului glucozei, dar s-a redus semnificativ eliberarea AsAT, AlAT, LDH. Tabloul morfologic a elucidat dezvoltarea unei hepatite focale slabe sau moderate, o congestie sinusoidală şi vacuolizarea citoplasmei (Hossein Ali Arab et al., 2009).

Modelarea ischemiei timp de 30 min la câini prin ligaturarea ligamentului hepato-duodenal a determinat dezvoltarea unui sindrom moderat de citoliză (majorarea de 2,5 ori a activităţii AsAT şi AlAT, de 1,8 ori a LDH) şi colestază (creşterea activităţii FAl de 1,5 ori, nivelului bilirubinei de 1,8 ori), precum şi o hepatodepresie uşoară (reducerea nivelului fibrinogenului de 1,5 ori, indicelui protrombinic, fără modificări esenţiale ale conţinutului colesterolului total, beta-lipoproteinelor, proteinelor totale, ureei, creatininei, probei timol). Acestea din urmă erau însoţite de dereglări preponderent hemodinamice în ficat, precum: staza în venele centrale şi portale ale zonelor centrale ale acinusurilor; edem interstiţial; sectoare de parenchim hepatic cu dereglări distrofice şi necrobiotice; creşterea volumului citoplasmei hepatocitelor cu urme de plasmoragii; lipoidoză cu distrofie granulară şi hidroptică (Бежин А.И., Нерьков А.А., 2010).

Nicolaev S.B. şi coaut. (2008) au relatat că ischemia ficatului de 20 min în perioada postischemică precoce produce o creşere a conţinutului LDH în ficat ca urmare a hipoxiei cu intensificarea proceselor anaerobe ale metabolismului, principalul dintre care este glicoliza. Concomitent se determina o micşorare a nivelului ATP şi citocromoxidazei, enzimă cheie a lanţului respirator, ca rezultat al diminuării proceselor aerobe (dereglarea fosforilării oxidative şi micşorarea potenţialului energetic al celulei).

Ischemia ficatului de circa 70% (clamparea vaselor lobului central şi stâng) timp de 180 min s-a soldat cu majorarea activităţii AlAT de circa 6 ori, iar a AsAT şi GGTP - de circa 3 ori (Данченко Е.О., 2001). O intensificare maximă a activităţii enzimelor s-a constatat peste 12 ore (AlAT –de 7 ori, AsAT - de 70 ori, GGTP – 4ori), urmând ca activitatea AsAT să evolueze destul de marcat (majorarea de 50 ori peste 18 ore, 20 ori – peste 24 ore, 18 ori – peste 30 ore, 14 ori – peste 36 ore), în timp ce activitatea AlAT şi GGTP înregistra o dinamie mai lentă. E necesar de menţionat că deja peste 48 ore gradul de creştere a activităţii transaminazelor era identic (de 4 ori), diminuarea ulterioară fiind mai lentă la AlAT, cu normalizarea activităţii ambelor enzime peste 20 zile. Concomitent, micşorarea activităţii GGTP avea loc mai lent fără a se normaliza la a 20-a zi. Astfel, activitatea maximă a enzimelor hepatice se atinge în perioada postischemică, îndeosebi în primele 24 ore, cu o diminuare semnificativă peste 2-4 zile. Acidul taurodezoxicolic a contribuit la o reducere a activităţii enzimelor în perioada de ischemie şi postischemică cu normalizarea ei la a 10-a zi. Efectul hepatoprotector poate fi determinat de acţiunea membranostabilizatoare (modificarea componenţei fosfolipidelor membranelor), antioxidantă (reducerea apoptozei în perioada de reoxigenare), detoxicantă (creşterea metabolismului, transportului şi excreţiei acizilor biliari endogeni hidrofobi toxici) şi antiapoptotică (activarea proteinchinazei C şi inducerea căii inozitoltrifosfat de transducţie a factorilor de creştere).

Modelarea ischemiei ficatului prin ligaturarea ligamentului hepato-duodenal timp de 20 şi 30 min a determinat dezvoltarea, dependentă de durata ischemiei, a sindromului de citoliză (creşterea activităţii AsAT, AlAT), colestază (majorarea activităţii FAl, GGTP şi nivelului bilirubinei) şi hepatodepresie (diminuarea nivelului fibrinogenului, indicelui protrombinic, colesterolului şi majorarea celui a ureei, beta-lipoproteinelor). Modificări mai esenţiale ale acestor sindroame au survenit în perioada de reperfuzie. Astfel, la a 5-a zi s-a constatat o majorare maximă a activităţii enzimelor (AsAT, AlAT, FAl, GGTP) şi nivelului bilirubinei, beta-lipoporteinelor, ureei, cu o micşorare mai accentuată a conţinutului fibrinogenului, colesterolului total, indicelui protrombinic, pe fundalul intensificării semnificative a POL (creşterea nivelului conjugaţilor dienici şi dialdehidei malonice în ficat). Normalizarea parametrilor sindromului de citoliză şi colestază s-a determinat la a 15-20-a zi, în cazul ischemiei de 20 min, şi la a 30-a zi a celei de 30 min, ce corelau cu micşorarea intensităţii POL. Sindromul moderat de hepatodepresie revenea la cifrele iniţiale la a 10-a zi după ischemie. Utilizarea fosfoglivului, mexicorului şi, îndeosebi asocierii lor, cu scop de pretratament şi tratament, a contribuit la corecţia parametrilor biochimici la a 5-a zi de reperfuzie (Николаев С.Б.и др., 2010, Николаев С.Б., 2011). Autorii consideră că efectul benefic al fosfoglivului este determinat de fosfatidilcolina din componenţa sa care restabileşte structura şi funcţiile membranelor afectate ale hepatocitelor cu micşorarea pierderilor enzimelor şi reducerea formării şi eliberării substanţelor intermediare.

Nicolaev S.B. (2011) a raportat despre dezvoltarea unui sindrom secundar de imunodepresie în cadrul modelării ischemie/reperfuzie a ficatului, relevat prin diminuarea activităţii umorale (micşorarea numărului de celule formatoare de anticorpi în splină) şi stării funcţional-metabolice a neutrofilelor (reducerea rezervelor fagocitare şi indicelui fagocitar al neutrofilelor), care erau maxime la a 5-a zi cu revenirea la nivelul iniţial în cazul ischemiei de 20 şi 30 min respectiv peste 20 zile şi 30zile. Utilizarea în aceste situaţii a mexicorului (remediu antioxidant şi reglator al metabolismului energetic) a contribuit la stimularea răspunsului umoral imun şi hipersensibilităţii întârziate cu reducerea dereglărilor funcţional-metabolice ale neutrofilelor. Fosfoglivul (preparat ce conţine fosfolipide esenţiale) a manifestat un efect imunomodulator şi antioxidant moderat, care ceda mexicorului. În acelaşi timp, asocierea preparatelor a contribuit la corecţia optimă a dereglărilor metabolice şi imunodepresive, cauzate de ischemia acută a ficatului

Studiile, referitoare la diferite tipuri de hipoxie hepatică (ischemică, hipovolemică, histochimică etc.), au demonstrat dezvoltarea unei stări de imunodeficienţă secundară, dependentă de energie. Ipoteza respectivă este argumentată prin eficacitatea preparatelor ce reglează procesele metabolice în corecţia funcţiilor imunologice. Imunocorecţia era posibilă în diferite forme de dereglări metabolice (cu eficacitate variată) prin utilizarea compuşilor ce reglează glicoliza, ciclul Krebs, activitatea lanţului respirator al mitocondriilor, precum şi celor ce posedă acţiune antioxidantă, antihipoxantă şi membranostabilizatoare, fapt ce denotă despre corelaţia şi compensarea reciprocă a proceselor de producere a energiei la nivel celular şi sistemic (Николаев С.Б., 2011).

În ischemia de 40% a ficatului pe o durată de la 15 până la 120 min s-a cercetat statutul energetic şi metabolismul glucidic. S-a constatat că o ischemie de 15 şi 30 min producea cea mai importantă micşorare a conţinutului de ATP (60 şi 40% de la nivelul iniţial), ADP, nucleotide totale (NAT) şi a potenţialului energetic (PE), cu o micşorare ulterioară la creşterea duratei ischemiei până la 120 min. În acelaşi timp s-a determinat majorarea nivelului AMP peste 30 min (147%) şi 120 min (191%) (Гальперин Э.М. и др., 2000). Autorii menţionează că în cazul unei ischemii de 70% sau totale are loc o micşorare mai accentuată a statutului energetic. Totodată s-a demonstrat că alterarea statutului energetic al hepatocitelor are loc, îndeosebi, în primele 30 min ale ischemiei, urmând ca micşorarea ulterioară până la 120 min să fie mai lină (neesenţială faţă de 30 min).

În perioada de reperfuzie s-a relevat o revenire a parametrilor statutului energetic în dependenţă de durata ischemiei. Astfel, după o ischemie de 15 min nivelul de ATP, ADP, NAT şi PE se majora deja peste 5 min cu normalizarea peste 10 min. cu o micşorare a conţinutului AMP. O legitate similară s-a constatat şi în ischemia de 30 min, dar cu o restabilire mai lentă a statutului energetic (peste 30 min). În cazul unei ischemii de 60 min, în primele 5 min se determina o micşorare a ATP, ADP, NAT, PE, urmând ca peste 20 min să se înceapă o majorare a parametrilor respectivi cu normalizarea lor peste 60 min. Ischemia ficatului timp de 120 min se solda în termenele precoce ale reperfuziei cu reducerea în continuare a statutului energetic, care începea să crească peste 30 min, dar care nu se normaliza peste 120 min (Гальперин Э.М. и др., 2000). Autorii concluzionează că în perioada de reperfuzie, pentru restabilirea statutului energetic al celulelor, este necesar un timp cu atât mai mare, cu cât durata ischemiei a fost mai mare.

Determinarea activităţii enzimelor metabolismului glucozei în faza ischemică a afecţiunii hepatice a demonstrat că ischemia de 15 şi 30 min produce o micşorare neesenţială a activităţii hexochinazei (HK), fosfofructochinazei (PPK), glucozo-6-fosfatdehidrogenazei (G-6-PDH) şi izocitratdehidrogenazei (ICDH). Reducere importantă a activităţii enzimelor respective se constata la 60 min de ischemie, urmând ca la creşterea duratei până la 120 min diminuarea activităţii acestora să fie mai lină şi neesenţială (Гальперин Э.М. и др., 2000). Autorii menţionează că perturbările metabolismului glucozei sunt dependente de durata ischemiei, dar mai esenţială la 60 min. Astfel, se estimează o inhibare esenţială a enzimelor cheie, respectiv a HK (asigură celulele cu substratul energetic); PPK (enzimă cheie a glicolizei); G-6-PDH (enzima cheie a ciclului pentozomonofosfat de utilizare a glucozei) şi ICDH (una din enzimele principale ale ciclului Krebs).

Restabilirea circulaţiei în cazul ischemiei de 15 min se solda în primele 5-10 min cu o micşorare a activităţii enzimelor glicolitice (HK şi PPK), care peste 30 min începeau să crească şi atingeau circa 80% de la nivelul iniţial. O dinamică similară a activităţii HK şi PPK (micşorarea în primele 15 min) se constata în termenele precoce ale reperfuziei după o ischemie de 30 min. E necesar de menţionat că ischemia timp de 60 şi 120 min nu se solda cu micşorarea activităţii enzimelor glicolitice la restabilirea circulaţiei, urmând ca peste 60 min să se majoreze lent (Гальперин Э.М. и др., 2000).

Activitatea G-6-PDH continua să se micşoreze în termenele precoce de reperfuzie după ischemia de 15 şi, îndeosebi, 30 min, în timp ce la o ischemie de 60 şi 120 min nu se schimba esenţial. Restabilirea activităţii enzimei s-a relevat doar după o perioadă de reperfuzie de 120 min după o ischemie cu durată similară. Reperfuzia, după ischemia de 15 şi 30 min, determina în primele 10 min o diminuare a activităţii ICDH, proporţională duratei ischemiei, cu restabilirea ei peste 30 min. În acelaşi timp ischemia timp de 60 şi 120 min nu se solda cu reducerea activităţii ICDH la iniţierea reperfuziei, însă restabilirea era lentă şi activitatea peste 120 min de reperfuzie a constituit circa 80% de la nivelul iniţial (Гальперин Э.М. и др., 2000). Astfel, autorii concluzionează că în termenele precoce de reperfuzie (5-10 min) se constata o inhibare a căii pentozomonofosfat şi glicolizei, fără modificări esenţiale a activităţii ciclului Krebs. În termenele tardive ale reperfuziei (30-60min) se determină o restabilire neesenţială a glicolizei, activitatea căii pentozomonofosfat rămânând la un nivel scăzut cu restabilirea practic deplină a activităţii ciclului Krebs.

Modificarea potenţialului energetic în timpul reperfuziei corela cu activitatea ciclului Krebs şi nu corela cu modificările glicolizei şi căii pentozomonofosfat, ce poate demonstra despre utilizarea pentru sinteza nucleotidelor energetice nu a glucozei, dar, posibil, a acizilor graşi liberi, ca compuşi energetici mai convenabili. Astfel, în sindromul de ischemie/reperfuzie se modifică esenţial componenţa substraturilor căilor de formare a ATP şi reorientarea căilor de sinteză a energiei, îndreptate spre intensificarea proceselor reparative în perioada precoce a reperfuziei, ce se confirmă prin datele literaturii despre dereglările formării ATP în ischemie a tuturor căilor metabolice, cauzate de acest proces. Datele relatate denotă despre capacitatea înaltă a ficatului de restabilire a compuşilor energetici în perioada de reperfuzie a ţesutului ischemic, fapt confirmat prin creşterea supravieţuirii animalelor (Гальперин Э.М. и др., 2000).

În cazul ischemiei, la restabilirea circulaţiei sangvine se dezvoltă mecanisme cheie ce afectează structurile membranare, printre care: disfuncţia aparatului mitocondrial; activarea fosfolipolizei; intensificarea POL; inhibarea activităţii enzimelor antioxidante. Ischemia/reperfuzia produce modificări esenţiale în stratul bilipidic al membranelor celulare şi subcelulare ale ficatului relevate prin: creşterea conţinutului colesterolului; micşorarea cantităţii totale a fosfolipidelor; modificarea raportului fosfolipidelor individuale, preponderent prin reducerea conţinutului fosfolipidelor POL sensibile. Gradul de dereglare a componentului lipidic al membranelor în mare parte determină reversibilitate sau ireversibilitatea leziunilor celulare, ceea ce va influenţa restabilirea activităţii funcţionale a organului în perioada postreperfuzională (Андреева Н.Н. и др., 2009). Autorii au constatat, în cazul unei ischemii totale de 10 min a ficatului, cu o reperfuzie de 40 min, o majorare a conţinutului fosfatidilserinei (FS), acizilor fosfatidici (AF), lizofosfatidilcolinei (LFC) şi sfingomielinei (SFM), cu reducerea concomitentă a conţinutului fosfatidicolinei (FC), fosfatidiletanolaminei (FE) şi a raportului FS+FE/SFM+FC. Micşorarea fosfolipidelor (FL) cu acumularea lizofosfolipidelor (LFL) este rezultatul sumar al hidrolizei FL, LFL, reacilarea LFL.

Pentru profilaxia şi tratamentul dereglărilor hepatice în cazul de ischemie/reperfuzie s-a recurs la utilizarea unor medote patogenetice, precum: expunerea la ischemia tranzitorie de scurtă durată; terapia antioxidantă, folosirea antagoniştilor receptorilor citochinelor; terapia anticoagulantă şi fibrinolitică; influenţarea proceselor imune; oxigenarea hiperbară; ameliorarea proceselor metabolice (Ярошенко И.Ф., Каланчина Т.Ю., 2006).

Preexpunerea ficatului la o ischemie tranzitoric (fenomen cunoscut ca „ischemie preventivă") creşte toleranţa la ischemie/reperfuzie prin: restabilirea aportului de energie şi homeostazei calciului, sodiului şi pH-ului; majorarea potenţialului antioxidant; expresia multor proteine stres-răspuns, ce includ proteinele fazei acute, proteinele de şoc şi hem-oxigenazele. Observaţiile şi studiile preliminare la om au demonstrat raţionalitatea ischemiei preventive în minimalizarea sau prevenirea afecţiunilor ischemie/reperfuzie în chirurgie şi situaţiile de hipoperfuzie (Romanque U.P et al., 2005). În cazul unei ischemii de 10 min cu o reperfuzie de 10 min, urmată de o ischemie de 90 min, s-a relevat o micşorare a activităţii aminotransferazelor, glutation-S-transferazei şi nivelului AMP, diminuarea POL şi stresului oxidativ cu menţinerea proceselor adecvate de oxido-reducere în mitocondrii, majorarea nivelului proteinelor antiapoptotice şi inducerii NOSi (Ярошенко И.Ф., Каланчина Т.Ю., 2006). Autorii menţionează că la baza efectului benefic al ischemiei preventive stau: producerea tranzitorie de NO; reducerea nivelului substanţelor toxice ce se formează în cazul reperfuziei; menţinerea metabolismului energetic; micşorarea factorului nuclear de transcripţie; blocarea căii xantinoxigenazice de producere a SRO; majorarea nivelului L-argininei; preîntâmpinarea afectării proteinelor şi ADN.

În cazul ischemiei hepatice, indusă prin administrarea fracţionată şi repetată a fenilefrinei, posibil, se poate realiza un astfel de mecanism, reieşind din modificările uşor-moderate ale activităţii enzimelor în ser (AsAT, AlAT, LDH, SDH, FAI, GGTP) şi parametrilor metabolici, precum şi din absenţa în unele cazuri a corelaţiilor dintre gradul de creştere a activităţii enzimei în ser şi de micşorare a ei în ficat. Utilizarea concomitentă a preparatelor entomologice cu alfa-adrenomimeticul pe parcursul a 7 zile a contribuit la reducerea intensităţii sindromului de citoliză, colestază şi hepatodepresie, posibil, prin amplificarea mecanismelor adaptive (intensificarea proceselor energetice, creşterea potenţialului antioxidant, corecţia proceselor imune) prin componentele sale (lipide, proteine, aminoacizi, antioxidanţi) şi efectele posibile (hepatoprotector, antiinflamator, imunomodulator, antioxidant).

Terapia antioxidantă este considerată ca o metodă patogenetică datorită rolului important al stresului oxidativ în patogeneza afecţiunilor de tip ischemie/reperfuzie. Folosirea cu acest scop a tocoferolilor, acidului ascorbic, citocromului C endogen, derivaţilor sintetici (fenozan, dibunol, oxibat de sodiu, resveratrol etc.) a permis rezolvarea unor aspecte patogenetice ale problemei în medicina practică.

În cazul transplantului şi reperfuziei ficatului se constată modificări esenţiale, deşi reversibile, ale proceselor POL şi activităţii sistemului antioxidant, care, de rând cu dereglările transportului oxigenului, pot fi verigile patogenetice ale afectării ficatului în perioada de reperfuzie. Necesitatea utilizării în aceste cazuri a antioxidanţilor este evidentă (Перепелица А.В., Киричек Л.Е., 2006).

Tocoferolul alfa este cel mai important inhibitor al radicalilor liberi în lanţul reacţiilor POL prin: captarea directă a radicalilor liberi; creşterea nivelului GSH; proprietăţi non-antioxidante, precum inhibarea proteinchinazei C. În ischemia ficatului, pe parcursul primei ore de reperfuzie, s-a constatat o micşorare marcată în ficat a tocoferolului alfa. Pretratamentul cu doze mari şi foarte mari de tocoferol alfa (30-300 mg/kg) a crescut nivelul ATP, a prevenit intensificarea POL şi reducerea GSH în faza precoce a reperfuziei în ischemia hipertermică a ficatului. Efect benefic s-a constatat la asocierea cu pentoxifilina (Glantzounis G.K.et al., 2005, Korontzi M.I.et al., 2010).

Tocoferolul alfa interacţionează cu lanţul glucidic al acidului arahidonic cu creşterea densităţii stratului lipidic, stabilizarea membranelor şi menţinerea activităţii enzimelor membranare (ubichinone). Preparatul reducea intensitate POL prin cuplarea radicalului superoxid ($O_2$*) şi hidroxil (OH*), cel mai agresiv radical al oxigenului. Tocoferolul alfa exercită acţiune protectoare indirectă asupra ADN şi cromatinei faţă de radicalii liberi, cu stimularea replicării ADN, sintezei şi funcţiilor ubichinonei, eliberării corticosteroizilor (Перепелица А.В., Киричек Л.Е., 2006)

Studiile experimentale au demonstrat că acidul ascorbic în doze mici (< 100 mg/kg) manifestă efect protector, iar în doze mari (1000 mg/kg) agravează ischemia/reperfuzia ficatului. În cadrul unor studii randomizate la pacienţii cu rezecţia ficatului, administrarea înainte de intervenţie a asocierii multivitaminice (tocoferol alfa 10 mg cu 1g acid ascorbic) a determinat reducerea intensităţii POL, activităţii transaminazelor şi a complicaţiilor postoperatorii (Glantzounis G.K.et al., 2005).

Acidul ascorbic, prin prezenţa legăturii dienolice (-COH=COH-), manifestă proprietăţi reductoare marcate, iar împreună cu sistemul GSH, alte vitamine antioxidante, selenul, compuşii fenolici (aminoacizii aromatici, melanina), ionii metalelor din centrele oxidoreductazelor potenţială şi prelungesc activitatea antioxidantă în organism (Перепелица А.В., Киричек Л.Е., 2006)

Compuşii tiolici endogeni sau exogeni, prin oxidarea grupelor SH ale cisteinei, exercită acţiune antioxidantă, precum şi rolul de mediatori ai majorităţii mecanismelor celulare redox-senzitive. Glutationul, cel mai important antioxidant intracelular, este un substrat pentru glutationperoxidază şi poate capta direct SRO. Administrarea GSH exogen şi a precursorilor săi are menirea de a restabili sau menţine nivelul antioxidantului intracelular. Studiile recente au demonstrat eficacitatea GSH în ischemia hiper- şi hipotermică a ficatului. Problema, în mare parte, constă în faptul că GSH exogen este limitat captat de celule datorită dimensiunilor mari ale moleculei, dar aceasta este importantă în cazul stresului oxidativ sever intracelular. Precursorii GSH (N-acetilcisteina, metionina, s-adenozil L-metionina, acidul lipoic etc.), datorită dimensiunilor mai mici ale moleculelor, s-au dovedit efectivi în restabilirea nivelului GSH endogen. În molecula N-acetilcisteinei (NAC) rolul principal îl are cisteinil tiolul care determină: nucleofilicitatea şi acţiunea redox; metabolizarea în cisteină şi sinteza GSH; interacţiunea cu SRO intermediare cu formarea NAC-thyl radicalilor. N-acetilcisteina în ischemia lobară a amplificat funcţia ficatului, microcirculaţia şi oxigenarea în faza tardivă a reperfuziei, iar la asocierea cu melatonina a demonstrat efect benefic şi în faza precoce. Un efect mai marcat s-a constatat la bucilamină, compus tiolic cu 2 grupe SH (Glantzounis G.K.et al., 2005, Korontzi M.I.et al., 2010).

S-adenozil L-metionina (SAM), prezentă în toate celulele, este un donator de grupe metil, participă la reacţiile de transsulfatare cu producerea de GSH. Pretratamentul cu SAM, în cadrul ischemiei hiper- şi hipotermice, a demonstrat efect protector şi a diminuat stresul oxidativ în hepatocite şi mitocondrii (Korontzi M.I.et al., 2010).

Acidul lipoic, un donator de SH grupe, în studii experimentale şi trialuri clinice a demonstrat proprietăţi antioxidante prin ameliorarea funcţiilor ficatului şi dereglărilor histologice (Korontzi M.I.et al., 2010).

Ameliorarea proceselor metabolice se poate realiza prin utilizarea unor substanţe în calitate de substraturi endogene ale verigilor principale, implicate în procesele patogenetice ale ischemiei/reperfuziei. Una din căile de profilaxie şi tratament a sindromului postischemic reprezintă ameliorarea proceselor metabolice în zona ischemică, inclusiv prin utilizarea metaboliţilor naturali, ce pot interveni ca factori de adaptare la acţiunea extremală şi patologică a hipoxiei asupra organismului. Sub acest aspect un interes deosebit prezintă membranoprotectoarele – produse intermediare ale ciclului Krebs, precum şi aminoacizii, vitaminele (Ярошенко И.Ф., Каланчина Т.Ю., 2006).

Un şir de studii au demonstrat eficacitatea mai multor aminoacizi în profilaxia şi tratamentul dereglărilor produse de ischemie/reperfuzie. Astfel, glicina s-a dovedit eficientă prin diminuarea activităţii celulelor Kupffer, inhibarea activităţii TNF-alfa şi IL-1, micşorarea expresiei CD1 4b NF-kB. Melatonina contribuie la reducerea stresului oxidativ în mitocondrii şi ameliorarea proceselor metabolice în ficat. Utilizarea L-argininei determină creşterea nivelului NO, mişorarea DAM şi agregării plachetare, reglarea raportului TrA$_2$/PgI$_2$ (Ярошенко И.Ф., Каланчина Т.Ю., 2006).

Dipeptidul L-alanina-L-glutamina, la administrarea cu 2 ore înainte de ischemia ficatului prin clamparea triadei portale timp de 30 min cu reperfuzia de 60 min, a determinat efect protector prin micşorarea activităţii AlAT, LDH şi expresiei caspazei-3 (Araujior Junior R.J. et al., 2011).

Suplimentarea de scurtă durată a L-argininei în sindromul de ischemie/reperfuzie a determinat diminuarea activităţii creatinfosfochinazei, AlAT şi AsAT în ser şi nivelului radicalilor activi ai oxigenului în ficat (Sosnowscki P.et al., 2011).

Studiile experimentale au demonstrat că glicina, un aminoacid non-esenţial, a manifestat efect protector în ischemia lobară a ficatului, urmată de 6 ore de reperfuzie. Administrarea preparatului înainte de ischemie în doza de 5 mg/kg intravenos a crescut fluxul sangvin hepatic, microcirculaţia hepatică, producerea bilei şi a menţinut activitatea citocromoxidazei. Glicina, de asemenea, a micşorat creşterea lactatului şi a stimulat eliberarea acetoacetatului în bilă pe parcursul reperfuziei. Nivelul citochinelor (TNF-alfa, IL-8) şi afectarea hepatocelulară (AsAT, AlAT) au fost semnificativ reduse de glicină. Astfel, glicina a manifestat efecte benefice în ischemia ficatului prin diminuarea răspunsului inflamator sistemic şi menţinerea producerii energiei în celule (Sheth H.et al., 2011).

Ischemia/reperfuzia a micşorat capacitatea antioxidantă totală (AOT) şi activitatea catalazei (CAT) cu majorarea concomitentă a statutului oxidativ total (SOT), indicelui stresului oxidativ (ISO) şi nivelului mieloperoxidazelor (MLP). Modificările respective, induse de ischemie/reperfuzie, erau însoţite de creşterea activităţii AsAT şi AlAT în ser, iar în ficat de necroza hepatocitelor şi infiltrarea cu leucocite. Glutamina (Glu), administrată (intraperitoneal 0,75g/kg) înainte de ischemie şi înainte de reperfuzie, a determinat o creştere în ficat a AOT şi activităţii CAT cu diminuarea SOT, ISO şi MLP. Concomitent nu s-au depistat diferenţe esenţiale ale parametrilor respectivi la animalele supuse operaţiei false. În acelaşi timp, la utilizarea Glu s-a constatat o diminuare esenţială a activităţii transaminazelor, fără a obţine normalizarea lor, precum şi s-au redus dereglările histologice. Aminoacidul a micşorat nivelul endotoxinelor în ser, cauzat de ischemie/reperfuzie (Sozen S.et al., 2011).

Apoptoza hepatocitelor şi celulelor sinusoidale endoteliale este un mecanism critic ce contribuie la afecţiunile realizate de ischemie/reperfuzie. Mecanismul apoptozei în acest caz include producerea SRO şi creşterea calciului intracelular. S-a demonstrat, de asemenea, că translocarea bacteriilor şi endotoxinelor contribuie la inducerea apoptozei hepatocitelor, iar endotoxinele intensifică producerea de TNF-alfa, care la fel intensifică apoptoza hepatocitelor (Sozen S.et al., 2011).

Glutamina este unul din aminoacizii prezenţi în plasmă şi care joacă un rol important în metabolism. S-a determinat că Glu protejează de ischemie/reperfuzie intestinul, miocardul şi muşchii scheletici prin restabilirea nivelului GSH. În acelşi timp, administrarea intravenoasă a GSH pe parcursul reperfuziei s-a soldat cu protecţia ficatului. Glutamina este un precursor al sintezei acizilor nucleici şi GSH. Ea este substratul energetic principal pentru celulele ce proliferează şi se divid, precum eritrocite şi limfocite. Aminoacidul poate menţine direct sau indirect metabolismul, permeabilitatea, funcţiile şi structura mucoasei intestinale, promova hiperplazia celulelor epiteliale ale intestinului subţire şi colonului. Glutamina a micşorat activitatea AlAT, AsAT şi LDH, asociată cu afectarea parenchimului hepatic prin creşterea POL, care în faza de reperfuzie duce la citoliză (Sozen S.et al., 2011).

Stresul oxidativ în ischemie/reperfuzie este asociat cu eliberarea de citochine proinflamatoare şi molecule de adeziune, care, de rând cu endotoxinele, induc proces inflamator ca răspuns la ischemie/reperfuzie. Glutamina exercită efect protector prin creşterea activităţii CAT, ce captează peroxidul de hidrogen. Infiltrarea cu neutrofile contribuie la majorarea activităţii MLP, o enzimă primară ce se găseşte în ele, fapt ce denotă dezvoltarea inflamaţiei după ischemie/reperfuzie. Neutrofilele, prin secreţia de MLP, transformă hidroperoxizii şi radicali liberi cu inducerea POL. Glutamina a redus activitatea MLP, contribuind la efectul protector în ischemie/reperfuzie (Sozen S.et al., 2011).

Şobolanii cu un conţinut mai bogat de glicogen în ficat (dietă specială plus o infuzie a soluţiei de glucoză 50%, 1 ml la fiecare 6 ore de 4 ori) au fost mai rezistenţi la ischemia/reperfuzia ficatului prin asigurarea unei funcţii mai bune a organului, un nivel redus al transaminazelor, un indice mai mic al apoptozei, dereglări morfologice mai minore şi o supravieţuire mai mare peste o săptămână. S-a presupus că majorarea rezervelor de glicogen poate asigura un efect protector prin creşterea expresiei proteinelor Bcl-2, ca factori antiapoptotici (Liuo H.et al., 2011).

Utilizarea hepasterilului A (conţine L-arginină, L-acid asparaginic, vitaminele B) în doza de 2ml/kg la şobolani cu ischemie sistemică (ligatura aortei toracice) înainte şi în primele 7 min de postischemie a determinat creşterea supravieţuirii animalelor, ameliorarea parametrilor de laborator (micşorarea activităţii transaminazelor, nivelului potasiului, ureei, creatininei) şi tabloului morfologic (înlăturarea dereglărilor microcirculaţiei, micşorarea manifestărilor stazei venoase acute, edemului şi modificărilor distrofice ale peretelui vascular). Prin utilizarea morfometriei s-a constatat un efect protector universal al preparatului, declanşat peste câteva minute de la administrare, şi care se menţine timp de 48 ore. Analiza comparativă a demonstrat selectivitatea faţă de pulmoni (efect hemodinamic şi antiatelectatic), creier (diminuarea edemului), ficat (micşorarea edemului şi stazei) şi miocard (normalizarea hemodinamicii, reducerea edemului cardiomiocitelor şi interstiţiului). Modificările morfologice au interesat aparatul membranar al celulelor şi organitelor intracelulare. S-a concluzionat că perioada precoce de reperfuzie este foarte importantă pentru efectuarea măsurilor curative şi profilactice (Малова И.Ю., 2007).

Ischemia fenilefrinică poate fi determinată de particularităţile morfofuncţionale ale ficatului. Astfel, în I zonă – periportală (în jurul arterei hepatice, venei portale, ductului biliar), zona funcţională principală în care sângele conţine concentraţiile cele mai mari de oxigen, substanţe nutritive, xenobiotice, metabolizate de ficat, se determină cel mai intens proces de sinteză a proteinelor şi glicogenului, precum şi cea mai mare cantitate de mitocondrii şi enzime ale ciclului Krebs. Afectarea hepatocitelor poate fi cauzată de: vasoconstricţie cu diminuarea aportului de oxigen şi substanţe nutritive; creşterea concentraţiei calciului liber intracelular; dereglarea proceselor plastice şi bioenergetice; iniţierea proceselor POL şi de formare a radicalilor liberi. Preparatele entomologice, prin conţinutul bogat de aminoacizi esenţiali şi non-esenţiali, complexe lipoproteice şi antioxidanţi, pot contribui la anihilarea dereglărilor ischemice şi consecinţelor lor în afecţiunea experimentală, indusă prin fenilefrină.

## Concluzii

1. Afecţiunea ischemică a ficatului, indusă prin fenilefrină, provoca la a 7-a zi un sindrom uşor de citoliză (majorarea de 1,2-2 ori în ser a activităţii AsAT, AlAT, LDH, SDH cu diminuarea nivelului lor în ficat), colestază (creşterea de 1,2-1,5 ori în ser a activităţii FAl, GGTP cu micşorarea nesemnificativă a conţinutului lor în ficat) şi insuficienţă hepatocelulară (hiperglicemie, hiperproteinemie, hiperazotemie şi hipocolesterolemie) cu diminuarea intensităţii lor, preponderent a sindromului de citoliză, peste 14 zile.

2. Alfa-adrenomimeticul provocă o vasoconstricţie sistemică, care, posibil, inducea o afectare ischemică şi a altor organe (rinichi, intestin, miocard), relevată prin creşterea activităţii în ser a AsAT, $LDH_{1-2}$, FAl şi o majorare a nivelului glucozei, ureei şi creatininei în sânge.

3. Tratamentul cu preparatele entomologice a determinat o anihilare a afecţiunii ischemice a ficatului, îndeosebi în termenele precoce, relevată prin reducerea activităţii în ser a enzimelor citolitice specifice (AlAT, SDH, GGTP) şi restabilirea nivelului lor în ficat, mai manifest în termenele tardive.

4. Preparatele entomologice nu influenţau semnificativ sindromul de colestază (se constata o dinamică pozitivă a GGTP în ser şi ficat pe fundalul unei majorări a FAl, posibil, de geneză extrahepatică) şi de insuficienţă hepatocelulară (modularea nivelului glucozei, creatininei, ureei, proteinelor totale şi colesterolului total).

5. Tratamentul timp de 7 zile cu entoheptin a influenţat mai marcat sindromul de citoliză, iar timp de 14 zile cel de colestază. Utilizarea imuheptinului timp de 1-2 săptămâni a determinat o modulare a proceselor metabolice.

6. Preparatele entomologice manifestă activitate hepatoprotectoare moderată (valori importante ale IH şi CAH pentru AlAT, SDH, GGTP) în afecţiunea ischemică fără a influenţa asupra consecinţelor vasoconstricţiei în alte organe (rinichi, intestin, miocard).

7. Efectul hepatoprotector al preparatelor entomologice în afecţiunea ischemică şi sindromul postischemic, probabil, este determinat de antioxidanţii hidrosolubili, substraturi structurale şi energetice, necesare pentru anihilarea stresului oxidativ şi deficitului energetic, îndeosebi în perioada postischemică (de restabilire a hemodinamicii şi microcirculaţiei).

## BIBLIOGRAFIE

1. Adeneye A.A. Protective Activity of the Stem Bark Aqueous Extract of Musanga Cecropoides in Carbon tetrachloride and Acetaminophen-induced Acute Hepatotoxicity in Rats. Afr.J.Tradit.Complement Altern.Med. 2009. 5 (2), p.131-138.
2. Ahmed F, Urooj A. Hepatoprotective effects of Ficus racemosa stem Bark against carbon tetrachloride-induced hepatic damage in albino rats. Pharm Biol. 2010 Feb;48(2):210-6.
3. Al-Dosari MS. The effectiveness of ethanolic extract of Amaranthus tricolor L.: A natural hepatoprotective agent. Am J Chin Med. 2010;38(6):1051-64.
4. Al-Sowyan N.S. Efficacy and Safety of Folic Acid During Toxic Hepatitis Induced by Acute Overdose of Paracetamol. International Journal of Pharmacology. 2009; 5(3): 208-214.
5. Allman M., Gaskin L., Rivera C.A. $CCl_4$-induced hepatic injury in mice fed western diet is associated with blunted healing. J.Gastroenterol. Hepatol. 2010. March. 25 (3), p. 635-643.
6. Alisi C.S., Ojiaco A.O., Onyeze G.O.C. Normalisation of Lipoprotein Phenotypes by Chromolaena Odorata-Linn in carbon Tetrachloride Hepatotoxicity-Induced Dyslipidemia. Am..of Drug Discovery and development. 2011. p.1-11.
7. Alqasoumi S. Carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity: Protective effect of 'Rocket' Eruca sativa L. in rats. Am J Chin Med. 2010;38(1):75-88.
8. Aninat C. et al. Catecholamines induce an inflammatory response in human hepatocytes. Crit Care Med. 2008 Mar;36(3):848-54.
9. Arafa HM.Carnitine deficiency: a possible risk factor in paracetamol hepatotoxicity. Arch Toxicol. 2009 Feb;83(2):139-50. Epub 2008 Jul 3.
10. Araujo Junior RJ.et al. Preconditiong with L-alanyl-glutamine reduces hepatic ischemia-reperfusion injury în rats. Acta Cir.Bras. 2011; 26 Suppl.1: 8-13.
11. Artun BC. et al. The effect of carnosine pretreatment on oxidative stress and hepatotoxicitz in binge ethanol administred rats. Hum.Exp.Toxicol. 2010; aug;29(8):659-665.
12. Asif MirL et al. Carbon Tetrachloride (CCl4) - induced hepatotoxicity in rats: Curative role of *Solanum nigrum*. Journal of Medicinal Plants Research 2010. December. 4(23), p. 2525-2532.
13. Aydin AF. et al. Effect of carnosine treatment on oxidative stress in serum, apoB-containing lipoproteins fraction and erythrocytes of aged rats. Pharmacol.Rep.; 2010; 62(4):733-739.
14. Bashandy S.A., AlWasel S.H. Carbon Tetrachloride-induced Hepatotoxicity and nephrotoxicity in Rats: Protective Role of Vitamin C. J.Pharmacol.Toxicol. 2011. p.1-10.
15. Ben-Zvi Z, et al. Acetaminophen hepatotoxicity: is there a role for prostaglandin synthesis? Arch Toxicol. 1990;64(4):299-304.
16. Bergriche K. et al. Drug-induced toxicity on mitochondria and lipid metabolism: Mechanistic diversity and deleterious consequences for the liver. J.Hepatol. 2011 Apr.; 54(4): 773-794.
17. Bhadauria M, Nirala SK, Shukla S. Duration-dependent hepatoprotective effects of propolis extract against carbon tetrachloride-induced acute liver damage in rats. Adv Ther. 2007 Sep-Oct;24(5):1136-45.
18. Bhattacharjee R, Sil PC. The protein fraction of Phyllanthus niruri plays a protective role against acetaminophen induced hepatic disorder via its antioxidant

properties. Phytother Res. 2006 Jul;20(7):595-601.

19. Boldirev A.A. et al. Carnosine as natural antioxidant and geroprotector: from molecular mechanisms to clinical trials. Rejuvenation Res. 2010 Apr-Jun;13(2-3):156-158.
20. Canbay A, et al.. Acute liver failure: a life-threatening diseaseDtsch Arztebl Int. 2011 Oct;108(42):714-20.
21. Caro AA, Cederbaum AI. Inhibition of CYP2E1 catalytic activity in vitro by S-adenosyl-L-methionine. Biochem Pharmacol. 2005 Apr 1;69(7):1081-93.
22. Chan WH, et al. Induction of CYP1A1, 2B, 2E1 and 3A in rat liver by organochlorine pesticide dicofol. Toxicol Lett. 2009 Oct 28;190(2):150-5. Epub 2009 Jul 10.
23. Chandan B.K. et al. Hepatoprotective potential of Aloe barbadensis Mill. Egainst carbon tetrachloride induced hepatotoxicity. J.Ethnopharmacol. 2007 May 22; Vol. 111 (3), p. 560-566.
24. Cemek M. et al. Proctetive potential of Royal Jelly against carbon tetrachloride induced-toxicity and changes in the serum sialic acid levels. Food Chem.Toxicol. 2010 Jul.15.
25. Chen C. et al. Serum Metabolomics Reveals Irreversible Inhibition of Fatty Acid β-oxidation through the Suppression of PPARα Activation as a Contributing Mechanism of Acetaminophen-induced Hepatotoxicity Chem Res Toxicol. 2009 April; 22(4): 699–707.
26. Cheng J. et al., Rifampicin-Activated Human Pregnane X Receptor and CYP3A4 Induction Enhance Acetaminophen-Induced Toxicity. Drug Metab.Dispos.2009; august; 37(8):1611-1621.
27. Cheung C,. et al. The cyp2e1-humanized transgenic mouse: role of cyp2e1 in acetaminophen hepatotoxicity. Drug Metab Dispos. 2005 Mar;33(3):449-57. Epub 2004 Dec 2.
28. Choi JH. et al. Hepatoprotective effects of an anthocyanin fraction from purple-fleshed sweet potato against acetaminophen-induced liver damage in mice. J Med Food. 2009 Apr;12(2):320-6.
29. Dai G., et al. Retinoid X receptor alpha Regulates the expression of glutathione s-transferase genes and modulates acetaminophen-glutathione conjugation in mouse liver. Mol.Pharmacol. 2005 Dec.; 68(6): 1590-1596.
30. Dai G. et al. Acetaminophen metabolism does not contribuie to gender difference in its hepatotoxicity in mouse. Toxicol. Sci. 2006 Jul; 92(1): 33-41.
31. Das J, Ghosh J, Manna P, Sil PC. Acetaminophen induced acute liver failure via oxidative stress and JNK activation: protective role of taurine by the suppression of cytochrome P450 2E1. Free Radic Res. 2010 Mar;44(3):340-55.
32. Dejica D. Terapia antioxidantă. 2001.
33. Domitrovic R., Jakovac H., Blagojevic G. Hepatoprotective activity of berberine in mediated by inhibition of TNF-alfa, COX-2, and iNOS expression in CCl(4)-intoxicated mice. Toxicology. 2011. Feb. 4. 280 (1-2). P.33-43.
34. Donfack JH. et al. Antihepatotoxic and antioxidant activities of methanol extract and isolated compounds from Ficus chlamydocarpa. Nat Prod Commun. 2010 Oct;5(10):1607-12.
35. El BK, Hashimoto Y, Muzandu K, et al.. Protective effect of Pleurotus cornucopiae mushroom extract on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. Jpn J Vet Res. 2009 Aug;57(2):109-18.

36. El-Khatib AS. et al. Prophylactic effect of aqueous propolis extract against acute experimental hepatotoxicity in vivo. Z Naturforsch C. 2002 Mar-Apr;57(3-4):379-85.
37. Feng Y, Siu KY, Ye X, et al. Hepatoprotective effects of berberine on carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in rats. Chin Med. 2010 Sep 18;5:33.
38. Firdous A.P., Sindhu E.R., Kuttan R. Hepato-protective potential of carotenoid meso-zeaxanthin against paracetamol, CCl4 and ethanol induced toxicity. Indian j.Exp.Biol. 2011M Jan; 49(1):44-49.
39. Fouad AA. et al. Protective role of carnosine in mice with cadniun-induced acte hepatotoxicitz. Food Chem.Tpxicol. 2009 Nov.;47(11):2863-70.
40. Fukao T, Hosono T, Misawa S, Seki T, Ariga T.The effects of allyl sulfides on the induction of phase II detoxification enzymes and liver injury by carbon tetrachloride. Food Chem Toxicol. 2004 May;42(5):743-9.
41. Garba SH, Sambo N, Bala U. The effect of the aqueous extract of Kohautia grandiflora on paracetamol-induced liver damage in albino rats. Niger J Physiol Sci. 2009 Jun;24(1):17-23.
42. Gianini E.G., Testa R., Savarino V. Liver enzyme: a guide for clinicians. CMAJ. 2005 February 1; 172(3): 367-379.
43. Girish C. et al. Hepatoprotective activity of six polyherbal formulations in paracetamol induced liver toxicity in mice. Indian J Med Res. 2009 May;129(5):569-78.
44. Ghicavîi V., Bacinschi N. Preparatele entomologice – o nouă direcţie de cercetare şi elaborare a medicamentelor. Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţe medicale. 3 (7). Chişinău 2006. p. 221-226.
45. Glantzounis G.K. et al. The Contemporany Role of Antioxidant Therapy in Attenuating Liver ischemia-Reperfusion Injury:A Review. Liver Transplantation 2005; September 11 (9):1031-1047.
46. Golestan J.M. et al. Protective effect of ghrelin on acetaminophen-induced liver injury in rat. Peptides. 2010 Nov.; 3(11): 2114-2117.
47. Gonzalez FJ. Role of cytochromes P450 in chemical toxicity and oxidative stress: studies with CYP2E1. Mutat Res. 2005 Jan 6;569(1-2):101-10.
48. Gopi K. S. et al. Acetaminophen-induced Hepato- and Nephrotoxicity and Amelioration by Silymarin and *Terminalia chebula* in Rats. Toxicol Int. 2010 Jul-Dec; 17(2): 64–66.
49. Gowda S. et al., A review on laboratory liver function tests. Pan. Afr.med.J. 2009; 3:17
50. Grigorescu M., Tratat de hepatologie, Bucureşti, 2004.
51. Grypioti AD: Liver Oxidant Stress Induced By Paracetamol Overdose. The Internet Journal of Pharmacology. 2006 Volume 4 Number 2
52. Gudumac V., Nastas I. Procedeu de determinare a „Substanţelor necrotice. Certificat de inovator nr.4048 din 25.11.2003.
53. Hajimehdipoor H. et al. Protective effects of Swertia longifolia Boiss.and its active compound, swerchirin, on paracetamol-induced hepatotoxicity în mice. J.Pharm Pharmacol. 2006 Feb.; 58(2): 277-280.
54. Handa SS, Sharma A. Hepatoprotective activity of andrographolide against galactosamine & paracetamol intoxication in rats. Indian J Med Res. 1990 Aug;92:284-92.

55. Hassan H. A. EL-Gendy A. M. Evaluation of silymarin and / or ginger effect on induced hepatotoxicity by carbon tetrachloride in male albino rats. The Egyptian Journal of Hospital Medicine. 2003; 12:101-112.
56. Hazai E, Vereczkey L, Monostory K. Reduction of toxic metabolite formation of acetaminophen. Biochem Biophys Res Commun. 2002 Mar 8;291(4):1089-94.
57. Hau DK. et al. Phyllanthus urinaria extract attenuates acetaminophen induced hepatotoxicity: involvement of cytochrome P450 CYP2E1. Phytomedicine. 2009 Aug;16(8):751-60.
58. Henrion J. Hypoxic hepatitis. Liver Int. 2011 Oct 10.
59. Hinson J.A., Roberts D.W., James L.P. Mechanisms of Acetaminophen-Induced Liver Necrosis. Handb. Exp. Pchamacol. 2010 (196). p. 369-405.
60. Hossien Ali Arab et al. Histological and biochemical alterations in early-stage lobar ischemia-reperfusion in rat liver. Wold J.Gastroenterol. 2009;april 28;15(16): 1951-1957.
61. Hsu CC. et al. Preventive effect of Ganoderma amboinense on acetaminophen-induced acute liver injury. Phytomedicine. 2008 Jun 23.
62. Hsu YW. et al. Protective effects of silica hydride against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice. Food Chem Toxicol. 2010 Jun;48(6):1644-53. Epub 2010 Mar 27.
63. Hwang YP. et al. Protective effects of puerarin on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. Arch Pharm Res. 2007 Oct;30(10):1309-17
64. Jaeschke H. et al. Mechanisms of hepatotoxicity. Toxicol Sci. 2002 Feb;65(2):166-76.
65. Jaeschke H, Bajt ML. Intracellular signaling mechanisms of acetaminophen-induced liver cell death. Toxicol Sci. 2006 Jan;89(1):31-41. Epub 2005 Sep 21.
66. Jadhav VB. et al. Hepatoprotective activity of Luffa acutangula against CCl4 and rifampicin induced liver toxicity in rats: a biochemical and histopathological evaluation. Indian J Exp Biol. 2010 Aug;48(8):822-9.
67. Jang SI. et al. Hepatoprotective effect of baicalin, a major flavone from Scutellaria radix, on acetaminophen-induced liver injury in mice. Immunopharmacol Immunotoxicol. 2003 Nov;25(4):585-94
68. Jeong HG. et al.,. Hepatoprotective effects of 18beta-glycyrrhetinic acid on carbon tetrachloride-induced liver injury: inhibition of cytochrome P450 2E1 expression. Pharmacol Res. 2002 Sep;46(3):221-7.
69. Jing-Ying Xu et al. Protective effects of fullerenol on carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats. Carbon. 2010, 48, p.1388-1396.
70. Jung BD. et al. Norepinephrine stimulates interleukin-6 mRNA expression in primary cultured rat hepatocytes. J Biochem. 2000 Feb;127(2):205-9.
71. Ibrahim ZS. et al. Protection by Nigella sativa against carbon tetrachloride-induced downregulation of hepatic cytochrome P450 isozymes in rats. Jpn J Vet Res. 2008 Nov;56(3):119-28.
72. Ito Y. et al. Dietary steatotic liver attenuates acetaminophen hepatotoxicity in mice. Microcirculation. 2006 Jan;13(1):19-27.
73. Kamalakkannan N. et al. Protective Effect of N-Acetyl Cysteine in Carbon etrachloride-Induced Hepatotoxicity in Rats. Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics. 2005; 4:118-123.
74. Kamarappan Ch. et al., Protective and curative effects of polyphenolic extracts

from Ichnocarpus frutescense leaves on experimental hepatotoxicity by carbon tetrachloride and tamoxifen. Annals of Hepatology. 2011.Jan-March.. 10 (1), p.63-72.

75. Kamel H.H. et al., Journal of American Science. 2010. 6(10), p.992-1003.
76. Kanbur M. et al. The effects of royal jelly on liver damage induced by paracetamol in mice. Exp Toxicol Pathol. 2009 Mar;61(2):123-32. Epub 2008 Aug 6.
77. Kang KS. et al. The effects of fucoidan extracts on CCl(4)-induced liver injury. Arch Pharm Res. 2008 May;31(5):622-7. Epub 2008 May 15.
78. Karwani G., Sisodia S.S. Hepatoprotective activity of Mimosa pudica linn. In carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rats. Journal of Herbal Medicine and Toxicology. 2011. 5 (1), p.27-32.
79. Kaur G. et al. Evaluation of antioxidant activity of Cassia siamea flowers. J. Ethnopharmacol. 2006 Dec 6; Vol. 108 (3), p. 340-348.
80. Kikkawa R.,et al. Investigation of a hepatotoxicity screening system in primary cell cultures – „what biomarkers would need to be addressed to estimate toxicity in conventional and new approaches?)". J.Toxicol. Sci. 2005 Feb.; 30(1): 61-72.
81. Kikkawa R et al. In vivo hepatotoxicity study of rats in comparison with in vitro hepatotoxicity screening system. J Toxicol Sci. 2006 Feb;31(1):23-34.
82. Kim SJ. et al. Alteration in metabolism and toxicity of acetaminophen upon repeated administration in rats. J Pharmacol Sci. 2009 Oct;111(2):175-81.
83. Kim SN. et al. Induction of hepatic CYP2E1 by a subtoxic dose of acetaminophen in rats: increase in dichloromethane metabolism and carboxyhemoglobin elevation. Drug Metab Dispos. 2007 Oct;35(10):1754-8. Epub 2007 Jul 9.
84. Korontzi M.I., Papalois A., Kouerinis I.et al. Redox state and the potential role of antioxidant compounds in liver ischemia/reperfusion injury. International journal of Medicine and Medical Sciences. 201 July; 2 (7): 200-209.
85. Kostrubsky VE. et al. Role of CYP3A in ethanol-mediated increases in acetaminophen hepatotoxicity. Toxicol Appl Pharmacol. 1997 Apr;143(2):315-23.
86. Kupeli E, Orhan DD, Yesilada E. Effect of Cistus laurifolius L. leaf extracts and flavonoids on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. J Ethnopharmacol. 2006 Feb 20;103(3):455-60. Epub 2005 Oct 10.
87. Kumarappan C. et al. Protective and curative effects of polyphenolic extracts from Ichnocarpus frutescense leaves on experimental hepatotoxicity by carbon tretrachloride and tamoxifen. Ann Hepatol. 2011 Jan-Mar;10(1):63-72.
88. Lahon K, Das S. Hepatoprotective activity of Ocimum sanctum alcoholic leaf extract against paracetamol-induced liver damage in Albino rats. Pharmacognosy Res. 2011 Jan;3(1):13-8.
89. Laine J.E. et al., Acetaminophen bioactivation by human cytochrome P-450 enzymes and animal microsomes. Xenobiotica.2009.Jan.39(1):11-21.
90. Lee JW. et al. Effect of gamma irradiation on the efficacy of beta-glucan against acetaminophen induced toxicity in mice. Chem Biol Interact. 2009 Jun 15;180(1):98-105. Epub 2008 Dec 6.
91. Lee K.J., Choi J.H., Jeong H.G. Hepatoprotective and antioxidant effects of thecoffee diterpenes andcafstol on carbon tetrachloride-induced liver damage in mice. Food Chem. Toxicol., 2007. May 24.
92. Letelier ME. et al. Microsomal oxidative damage promoted by acetaminophen metabolism. Toxicol In Vitro. 2011 Oct;25(7):1310-3. Epub 2011 May 4.

93. Li Y. et al. Effects of phenethyl isothiocyanate on acetaminophen metabolism and hepatotoxicity in mice. Toxicol Appl Pharmacol. 1997 Jun;144(2):306-14.
94. Li J. et al. Troglitazone enhances the hepatotoxicity of acetaminophen by inducing CYP3A in rats. Toxicology. 2002 Jul 1;176(1-2):91-100.
95. Lieber CS. Cytochrome P-4502E1: its physiological and pathological role. Physiol Rev. 1997 Apr;77(2):517-44.
96. Lieber CS. Microsomal ethanol-oxidizing system (MEOS): the first 30 years (1968-1998)--a review. Alcohol Clin Exp Res. 1999 Jun;23(6):991-1007.
97. Lima de Mederios B.J. et al., Pharmacognosy res. 2011. Apr-Jun. 3 (2), p.79-84.
98. Lima T.B. S.et al. Hepatoprotective activity of LIV-first against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in albino rats. International Journal of green Pharmacy. 2010. April-June. P.71-74.
99. Lin MC,. et al. Protective effect of diallyl sulfone against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. J Biochem Toxicol. 1996;11(1):11-20.
100. Lin J. et al. Hepatoprotection in a rat model of acute liver damage through inhibition of CY2E1 activity by total alchaloids extracted from Rubus alceifolius Poir. Int J Toxicol. 2011 Mar;30(2):237-43. Epub 2011 Jan 11
101. Login C.C. Implicaţiile stresului oxidativ în mecanismele patogenetice ale hepatopatiilor toxice experimentale. 2009.
102. Luo H. et al. Protective effect of pre-storing glycogen on warm ischemia reperfusion injury in rat liver. Scihuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. 2011 Sep; 42(5):653-656.
103. Mahadevan SB. et al. Paracetamol induced hepatotoxicity. Arch Dis Child. 2006 Jul;91(7):598-603.
104. Mahesh A. et al. Hepatocurative potential of sesquiterpene lactones of Taraxacum officinale on carbon tetrachloride induced liver toxicity in mice. Acta Biol Hung. 2010 Jun;61(2):175-90.
105. Manyike PT. et al. Contribution of CYP2E1 and CYP3A to acetaminophen reactive metabolite formation. Clin Pharmacol Ther. 2000 Mar;67(3):275-82.
106. Marotta F. et al. Protective effect of a phytocomăound on oxidativ stress and DNA fragmentation against paracetamol-induced liver damage. Ann. Hepatol. 2009 Jan-mar; 8(1): 50-56.
107. Masson M.J., Leah D., Carpenter M.L.et al. Pathogenetic Role of NKT and NK Cells in Acetaminophen-Induced Liver Injury is Dependent on the Presence of DMSO. Hepatology. 2008 september; 48(3): 889-897.
108. Meschar A. et al. Alcohol-xenobiotic interactions. Role of cytochrome P450 2E1]. Pathol Biol (Paris). 2001 Nov;49(9):696-702.
109. Mochizuki M. et al. Carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in pregnant and lactating rats. J Toxicol Sci. 2009 Apr;34(2):175-81.
110. Nada S.A. et al. Mushroom-insoluble polysaccharides prevent carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rat. Food Chem. Toxicol. 2010Aug.20.
111. Nagi MN. et al. Thymoquinone supplementation reverses acetaminophen-induced oxidative stress, nitric oxide production and energy decline in mice liver. Food Chem Toxicol. 2010 Aug-Sep;48(8-9):2361-5. Epub 2010 Jun 1.
112. Nema AK, Agarwal A, Kashaw V. Hepatoprotective activity of Leptadenia reticulata stems against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. Indian J Pharmacol. 2011 May;43(3):254-7.

113. Nirala SK, Bhadauria M. Propolis reverses acetaminophen induced acute hepatorenal alterations: a biochemical and histopathological approach. Arch Pharm Res. 2008 Apr;31(4):451-61. Epub 2008 May 1.

114. Nogueira C.W., Borges L.P., Souza A.C. Oral administration of diphenyl diselenide potentiates hepatotoxicity induced by carbon tetrachloride. J.Appl.Toxicol. 2009, Mar., 29(2):156-64.

115. O'Brien PJ. et al. Advantages of glutamate dehydrogenase as a blood biomarker of acute hepatic injury in rats. Lab Anim. 2002 Jul;36(3):313-21.

116. Oh PS, Lee J, Lim KT. Inhibitory effect of MIL glycoprotein on expression of pro-inflammatory mediators in carbon tetrachloride-induced mice liver damage. J Appl Toxicol. 2010 Nov;30(8):754-60. doi: 10.1002/jat.1557. Epub 2010 Jun 29

117. Okovityĭ SV. New derivatives of triazino- and imidazoindole with hepatoprotective activity. Biomed Khim. 2004 May-Jun;50(3):293-303.

118. Oz HS. et al. Diverse antioxidants protect against acetaminophen hepatotoxicity. J Biochem Mol Toxicol. 2004;18(6):361-8.

119. Oyagbemi AA, Odetola AA. Hepatoprotective effects of ethanolic extract of Cnidoscolus aconitifolius on paracetamol-induced hepatic damage in rats. Pak J Biol Sci. 2010 Feb 15;13(4):164-9.

120. Qin LQ. et al. .Voglibose potentiates the hepatotoxicity of carbon tetrachloride and acetaminophen by inducing CYP2E1 in rats. Hepatol Res. 2005 Sep;33(1):50-6. Epub 2005 Sep 12.

121. Quan J., Yin X., Xu H. Boschniakia rossica prevent the carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity în rat. Exp.Toxicol.Pathol. 2011. Jan. 63 (1-2), p.53-59.

122. Patel PB. et al. Protective Effect of Ethanol Extract of Gymnosporia montana (Roth) Bemth. in Paracetamol-induced Hepatotoxicity in Rats. Indian J Pharm Sci. 2010 May;72(3):392-6.

123. Park CM. et al. Amelioration of oxidative stress by dandelion extract through CYP2E1 suppression against acute liver injury induced by carbon tetrachloride in Sprague-Dawley rats. Phytother Res. 2010 Sep;24(9):1347-53.

124. Raghavendra R. et al. Protective effect of partially purified 35 kda protein from silk worm (Bombyx mori) fecal matter against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity and in vitro anti-viral properties. Pharm. Biol.2010 Aug.25.

125. Raj V.P. et al. In vitro and in vivo hepatoprotestive effects of the total alkaloid fraction of Hygrophila auriculata leaves. Ind. J.Pharmacol. 2010. April. 42 (2), p.99-104.

126. Rajesh SV. et al. Effect of Clausena dentata (Willd.) M. Roem. against paracetamol induced hepatotoxicity in rats. Pak J Pharm Sci. 2009 Jan;22(1):90-3.

*127. Rajkapoor B. et al. Protective effect of Phylanthus polyphyllus on acetaminophen* induced hepatotoxicity in rats. Pak. J. Pharm. Sci., Vo.21, No.1, January 2008, p57-62.

128. Ramachandran V., Raja.B protective effects of syringic acid against acetaminophen-induced hepatic damage in albino rats. J.basic Clin.Physiol Pharmacol. 2010; 21(4): 369-385.

129. Ranawat L, Bhatt J, Patel J. Hepatoprotective activity of ethanolic extracts of Bark of Zanthoxylum armatum DC in CCl4 induced hepatic damage in rats. J Ethnopharmacol. 2010 Feb 17;127(3):777-80. Epub 2009 Oct 27.

130. Rasool MK. et al. Hepatoprotective and antioxidant effects of gallic acid in paraceta-

mol-induced liver damage in mice. J Pharm Pharmacol. 2010 May;62(5):638-43.

131. Romanque UP, Uribe MM, Videla LA. [Molecular mechanisms in liver ischemic-reperfusion injury and ischemic preconditioning]. Rev Med Chil. 2005 Apr;133(4):469-76.

132. Rong-Ze Yang. et al. Alanine aminotransferase isoenzymes: molecular cloning and quantitative analysis of tissue expression in rats and serum elevation in liver toxicity. Hepatology. 2009 february; 49(2): 598-607.

133. Russmann S., Kullak-Ublick G.A., Grattagliano I. Current Concepts of Mechanisms in Drug-Induced Hepatotoxicity. Curr. Med. Chem. 2009. 16 (23), p.3041-3053.

134. Saito S. et al. A dose-up of ursodeoxycholic acid decreases transaminases in hepatitis C patients. Wold J.gastroenterol. 2009. June. 15 (22), p.2782-2786.

135. Sahreen S., Khan M.R., Khan R.A. Hepatoprotective effects of methanol extract of *Carissa opaca* leaves on $CCl_4$-induced damage in rat. BMC Complement Altern Med. 2011; 11: 48.

136. Sarich T. et al. The effect of omeprazole pretreatment on acetaminophen metabolism in rapid and slow metabolizers of S-mephenytoin. Clin Pharmacol Ther. 1997 Jul;62(1):21-8.

137. Shahjahan M, Vani G, Devi CS. Protective effect of Indigofera oblongifolia in CCl4-induced hepatotoxicity. J Med Food. 2005 Summer;8(2):261-5.

138. Sheth H, Hafez T, Glantzounis GK. Glycine maintains mitochondrial activity and bile composition following warm liver ischemia-reperfusion injury. J Gastroenterol Hepatol. 2011 Jan;26(1):194-200.

139. Shim J.Y. et al., Protective action oh the immunomodulator ginsan against carbon tetrachloride-induced liver injury via control of oxidative stress and the inflamatory response. Toxicol. Appl.Pharmacol. 2010. Feb. 1, 24 (3), p.318-325.

140. Shvamal S. et al. Hepatoprotective effects of Pittosporum neelgherrense Wight&Arn., a popular Indian ethnomedicine. J.Ethnopharmacol. 2006 Apr.16;.

141. Sindhu E.R. et al. Carotenoid lutein protects rats from paracetamol, carbon tetrachloride- and ethanol-induced hepatite damage. J.Pharm.Pharmacol.2010 Aug.62(8):1054-60.

142. Singab AN. et al. Hepatoprotective effect of flavonol glycosides rich fraction from Egyptian Vicia calcarata Desf. against CCl4-induced liver damage in rats. Arch Pharm Res. 2005 Jul;28(7):791-8.

143. Snawder JE. et al. Loss of CYP2E1 and CYP1A2 activity as a function of acetaminophen dose: relation to toxicity. Biochem Biophys Res Commun. 1994 Aug 30;203(1):532-9.

144. Sen A. et al. Prevention of Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxicity by *Urtica urens* in Rats. Journal of Applied Biological Sciences 1 (3): 29-32, 2007.

145. Silva VM. et al. Transport deficient (TR-) hyperbilirubinemic rats are resistant to acetaminophen hepatotoxicity. Biochem. Pharmacol. 2005 Dec.5; 70(12): 1832-1839.

146. Sosnowski P. et al. The influence of short-term L: -arginine supplementation on rats' muscular and hepatic cells in ischemia-reperfusion syndrome. J Physiol Biochem. 2011 Sep 27.

147. Sozen S. et al. The effects of glutamine on hepatic ischemia reperfusion injury in rats. Hippokratia. 2011 Apr-Jun; 15(2) 161-166.

148. Sreedevi CD. et al., Hepatoprotective studies on Sida acuta Burm. f. J Ethnopharmacol. 2009 Jul 15;124(2):171-5. Epub 2009 May 5.
149. Stoyanovsky DA, Cederbaum AI. Thiol oxidation and cytochrome P450-dependent metabolism of CCl4 triggers Ca2+ release from liver microsomes. Biochemistry. 1996 Dec 10;35(49):15839-45.
150. Suja SR. et al. Evaluation of hepatoprotective effects of Helminthostachys zeylanica (L.) Hook against carbon tetrachloride-induced liver damage in Wistar rats.J. Ethnopharmacol. 2004, May, 92(1), 61 – 66.
151. Sumioka I, Matsura T, Yamada K. Therapeutic effect of S-allylmercaptocysteine on acetaminophen-induced liver injury in mice. Eur J Pharmacol. 2001 Dec 21;433(2-3):177-85.
152. Tarantino G., Di Minno M.N.D., Capone D. Drug-induced liver injury: Is it somehow foreseeable? World J Gastroenterol. 2009 June 21; 15(23): 2817–2833.
153. Terneus MV. et al. Comparison of S-adenosyl-L-methionine (SAMe) and N-acetylcysteine (NAC) protective effects on hepatic damage when administered after acetaminophen overdose. Toxicology. 2008 Feb 3;244(1):25-34. Epub 2007 Nov 7.
154. Thomsen MS. et al. Cytochrome P4502E1 inhibition by propylene glycol prevents acetaminophen (paracetamol) hepatotoxicity in mice without cytochrome P4501A2 inhibition. Pharmacol Toxicol. 1995 Jun;76(6):395-9.
155. Tien Y-C. et al., Esculetin Ameliorates Carbon Tetrachloride-Mediated hepatic Apoptosis in Rats. Int.J.Mol.Sci. 2011. 12 (6), p.4053-4067.
156. Tinel M. et al.. Subliminal Fas stimulation increases the hepatotoxicity of acetaminophen and bromobenzene in mice. Hepatology. 2004 Mar;39(3):655-66.
157. Tran A. et al. Protective effect of stiripentol on acetaminophen-induced hepatotoxicity in rat. Toxicol Appl Pharmacol. 2001 Feb 1;170(3):145-52.
158. Uzma N., Kumar B.S., Priyadarsini K.I. Hepatoprotective, Immunomodulatory, and Anti-inflamatory Activities of Sefenocystine in Experimental Liver Injury of Rats. Biol.Trace Elem. Res. 2010.Aug.25.
159. Valentovic M. et al. S-Adenosylmethionine (SAMe) attenuates acetaminophen hepatotoxicity in C57BL/6 mice. Toxicol Lett. 2004 Dec 30;154(3):165-74.
160. Verma N. et al. Protective effect of ethyl acetate fraction of Rhododendron arboreum flowers against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in experimental models. Indian J.Pharmacol. 2011. May-Jun. 4 (3), p.291-295.
161. Wang PY. et al. Acarbose alone or in combination with ethanol potentiates the hepatotoxicity of carbon tetrachloride and acetaminophen in rats. Hepatology. 1999 Jan;29(1):161-5.
162. Wang T, Sun NL, Zhang WD. Protective effects of dehydrocavidine on carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in rats. J Ethnopharmacol. 2008 May 8;117(2):300-8. Epub 2008 Feb 14.
163. Wang J. et al. IL-4-mediated transcriptional regulation of human CYP2E1 by two independent signaling pathways. Biochem Pharmacol. 2010 Nov 15;80(10):1592-600. Epub 2010 Aug 17.
164. Wei HL, Liu GT. Protective action of corynoline, acetylcorynoline and protopine against experimental liver injury in mice. Yao Xue Xue Bao. 1997 May;32(5):331-6.
165. Wilhelm EA. et al. Studies on preventive effects of diphenyl diselenide on acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. Pathophysiology. 2009 Jun;16(1):31-7. Epub 2009 Jan 21

166. Wolf K.K. et al. Role of CYP 3A and CYP 2E1 inAlcohol-Mediated Increases in Acetaminophen Hepatotoxicity: Comparison of Wild-Type and Cyp 2e1 (-/-) Mice. Drug Metab.Dispos. 2007. Jul.; 35 (7), p.1223-1231.
167. Wu Z.M. et al. Effects of salvanolic acid a on oxidative stress and liver injury induced by carbon tetrachloride in rats. Basic Clin.Pharmacol. toxicol. 2007 Feb; Vol.100 (2), p. 115-120.
168. Wu YL et al. Protective effects of salidroside against acetaminophen-induced toxicity in mice. Biol Pharm Bull. 2008 Aug;31(8):1523-9.
169. Xia Chen. et al. Protective effect of tea polyphenols against paracetamol-induced hepatotoxicity in mice is significanly correlated with cytochrome P450 suppression. World J Gastroenterol. 2009 April 21; 15(15): 1829–1835.
170. Xiao-Wen Li. et al. Mechanism underlying carbon tetrachloride-inhibited protein synthesis in liver World J Gastroenterol. 2010 August 21; 16(31): 3950–3956.
171. Yalçin S. et al. Synergistic action of sodium selenite and N-acetylcysteine in acetaminophen-induced liver damage. Hum Exp Toxicol. 2008 May;27(5):425-9.
172. Yan S.L. et al. Protective effects from carnosine and histidine on acetaminophen/ induced liver injury. J.Food Sci. 2009 Oct;74(8):H259-265.
173. Yang J, Li Y, Wang F, Wu C. Hepatoprotective effects of apple polyphenols on CCl4-induced acute liver damage in mice. J Agric Food Chem. 2010 May 26;58(10):6525-31.
174. Ye X. et al. Hepatoprotective effects of Coptidis rhizoma aqueous extract on carbon tetrachloride-induced acute liver hepatotoxicity in rats. J Ethnopharmacol. 2009 Jul 6;124(1):130-6.
175. Yim HK. et al. Contrasting changes in phase I and phase II metabolism of acetaminophen in male mice pretreated with carbon tetrachloride. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2006 feb.; 98(2): 225-230.
176. Yim HK. et al. Contrasting changes in phase I and phase II metabolism of acetaminophen in male mice pretreated with carbon tetrachloride. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2006 Feb;98(2):225-30.
177. Yousef MI. et al. Potential protective effects of quercetin and curcumin on paracetamol-induced histological changes, oxidative stress, impaired liver and kidney functions and haematotoxicity in rat. Food Chem Toxicol. 2010 Nov;48(11):3246-61. Epub 2010 Sep 4.
178. Zaher H. et al. Protection against acetaminophen toxicity in CYP1A2 and CYP2E1 double-null mice. Toxicol Appl Pharmacol. 1998 Sep;152(1):193-9.
179. Zeashan H. et al. Hepatoprotective activity of Amaranthus spinosus in experimental animals. Food Chem Toxicol. 2008 Nov;46(11):3417-21. Epub 2008 Aug 22
180. Андреева Н.Н. и др. Липидный обмен и ультраструктура гепатоцитов в постреперфузионном периоде при применении озонированного физиологического раствора. Современные технологии в медицине. 2009; 2;15-22.
181. Бабак О.Я. Клиническое значение и диагностическая тактика при повышении уровня трансаминаз в сыворотке крови при отсутствии клинических проявлений. Мистецтволикуваня. 2006; 8(34).
182. Бежин А.И., Перьков А.А. Антиокисдантная терапия при коррекции ишемического поражения печени. Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровья». 2010; 1: 8-18.
183. Белоусов Ю.Б., Зырянов С.К., Гуревич К.Г. Эффективность и безопасность со-

временных анальгетиков. Русский медицинский журнал. 2004; 12 (5); 283-286.
184. Беляков Н.А., Семесько С.Г. Антиоксидантная активность биологических жидкостей человека: методология и клиническое значение. Эфферентная терапия, 2005, т.11, nr .1, с.5-20
185. Болдырев А.А. Карнозин. Биологическая роль и возможности применения в медицине. М.МГУ. 1998. 320с.
186. Болдырев А.А. Проблемы и перспективы исследования биологической роли карнозина. Биохимия, 2000, 65, № 7, 884-890.
187. Болдырева Ю.В. Эффекты синергизма в совместном действии α-токоферола и ферментных антиоксидантов при окислении модельных гетерогенных липидных систем в присутствии биологически активных олигопептидов. Автореф. дисс. на соис. ученой степени канд. мед. Наук Тюмень; 2010 24с.
188. Бохонов М.С. Патогенетическое обоснование и эффективность системной энзтмотерапии при гепатите С. Автореф. Дисс. на соис. ученой ст. канд. мед. наук. М. 2007; 24с.
189. Бродский В.Я. Прямые межклеточные взаимодействия и «социальное» поведение клеток млекопитающих, протистов и бактерий, возможные причины многоклеточности. Онтогенез. 2009; 40;(2): 97-111.
190. Венгеровский А.И., Саратников А.С. Влияние легалона и лохеина на эффекты преднизолона при экспериментальном токсическом гепатите. Фармакология и токсикология, 1991.т.54, Nr.1, 76 -79;
191. Венгеровский А.И. и др. Терапевтическая эффективность энтеросорбентов при экспериментальном токсическом гепатите. Эфферентная терапия, 2000, т. 6, № 1, с. 47-50.
192. Венгеровский А.И. Фармакологические подходы к регуляции функций печени. Бюллетень сибирской медицины. 2002; 1: 25-29.
193. Волков, О. А. Биологическая роль карнозина и его использование в офтальмологии (мини-обзор). Биомедицинская химия : 2005; 51(5):128-130
194. Вохминцева Л.В. и др. особенности функциональной активности нейтрофилов у крыс с воспалением пародонта на фоне токсического поражения печени. Бюллетень сибирской медицины. 2007; 2: 11-15.
195. Гаврилов В.Б. и др. Определение тирозинсодержащих пептидов в плазме крови с коррекцией фонового поглощения. Резкое повышение чувствительности теста к интоксикации организма . Клиническая лабораторная диагностика 2004; 6: 19-22.
196. Гальперин Э.И. и др. Энергетический татус ткани печени крыс при ишемических повреждениях. Анналы хирургической патологии. 2000; 5:1: 43-48.
197. Гончарова И.А. и др. Изменение функции печени при стимуляции и депрессии макрофагов у крыс вистар с токсическим гепатитом. Бюллетень СО РАМН. 2004№ 4(114): 84-87.
198. Гутникова А.Р. и др. Пути восстановления детоксикационной функции печени при токсическом гепатите. Эфферентная терапия, 2003, т. 9, № 4, с. 42-45.
199. Данильченко Е.О. Модуляция тауродезоксихолевой кислотой пролиферации гепатоцитов ишемизированной печени крыс. Вопросы медицинской химии; 2001:4:
200. Демидов В.И. и др. эффективность применения препарата прогепар при экспериментальном повреждении печени парацетамолом: биохимия и гистология. Фарматека; 2011; 2:85-90.
201. Доркина Е.Г. Гепатопротективные свойства флавоноидов (фармакодинамика

и преспективы клинического применения). Автореф. докт. биол.наук. Волгоград. 2010. 35 с.

202. Ипатова О.М. Фосфоглив: механизм действия и применение в клинике. М. 2005. 318 с.
203. Залесский В.Н., Дынник О.Б. Механизмы токсикант-индуцированного апоптоза клеток печени. Современные проблемы токсикологию 2006. № 3. с.13-20.
204. Козлова М.А., Арешидзе Д.А., Снисаренко Т.А. Регенераторный потенциал печени крыс в возрасте трех месяцев под влиянием ферментативного влияния ферментативного гидролизата хлорофитума хохлатого. Вестник МГОУ Серия «Естественные науки». 2011. № 1, с.37-42.
205. Коломиец Н.Э, Михалева Л.К., Шейкин В.В. Гепатопротекторные свойства хвоща полевого. Фармация. - 2005. - N 4. - С. 38-40
206. Коломиец Н. Э. и др. Гепатопротекторные свойства хвощей. Фармация, 2011, № 7, С. 46-48.
207. Коршунов Д.А. Влияние эссенциале и янтарной кислоты на биоэнергетику печени при интоксикации парацетамолом в эксперименте. Бюллетень сибирской медицины. 2009; 4: 70-75.
208. Костюченко А.Л., Гуревич К.Я., Беляков Н.А. Повышение активности защитных механизмов детоксикации при эндотоксикозе. Сообщение 2. Тактика активной интракорпоральной детоксикации. Эфферентная терапия. 2002, т. 8, № 4, с. 3-13.
209. Кропотов А.В. и др. Антиперекисные эффекты экстракта из трепанга *Strichopus japonicus*. Pacific Medical Journal. 2004; 3:18-20.
210. Куценко С.А. Основы токсикологии. Санкт-Петербург. 2002. 360с.
211. Логинов А.С. и др. Оценка холестаза по активности антиоксидантных ферментов и составу липопротеидов плазмы крови больных с патологией печени.Терапевтический архив, 1998, т. 70, № 4, с. 40-42.
212. Малова И.Ю. оценка влияния гепастерила на течение реперфузионного синдрома. Фундаментальные исследования. 2007; 8: 77-80.
213. Мелентьева А.Н. Технология и фармакологические эффекты экстракта солянки холмовой (лохеина.Н). Автореф.дисс.на соис.уч.ст.канд.фарм.наук. Томск. 1007:23с.
214. Михальчук М.А., Великова В.Д. парацетамол как этиологический фактор печеночной и печеночно-почечной недостаточности. Российский семейный врач. 2007, 4; 45-48.
215. Николаев С.Б., Быстрова Н.А., Николаева О.Б. Состояние энергетического гомеостаза гепатоцитов в условиях острой ишемии печени. Успехи современного естествознания. 2008; 2: 93.
216. Николаев С.Б. и др. Иммуномодулирующие, антиоксидантные и гепатопротекторные эффекты мексикора и фосфоглива при экспериментальном ишемическом поражении печени. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2010; 10: 56-58.
217. Николаев С.Б. Фармакологическая коррекция тммунометаболических нарушений в условиях гипоксии (экспериментально-клиническое исследование). Автореферат дисс.ученой степени докт.мед.наук. Курск; 2011: 44.
218. Оковитый С.В., Шуленин С.Н. Клиническая фармакология гепатопротекторов. 2006, 80с.
219. Перепелица А.В., Киричек Л.Т. Антиокисданты в интенсивной терапии хи-

ругических больных. Международный медицинский журнал. Клиническая фармакология. 2006; Т: 111-115.

220. Саратиков А.С. и др. Влияние эплира на токсические поражения печени в эксперименте. Фармакология и токсикология, 1990, т. 53, Nr. 5, с. 43 – 45

221. Саратиков А.С. и др. Новые гепатопротективные и противовоспалительные препараты пелоидов. Томск, 2004.

222. Саратиков А.С. и др. Гепатопротективные свойства липроксола Эксперм. и клинич. фармакол. - 2002. № 2. С. 31-33.

223. Саратиков А.С, Венгеровский А.И. Влияние гепатопротекторов, содержащих фосфолипиды, на зависимую от цитохрома *P-450* антитоксическую функцию печени при экспериментальном токсическом гепатите Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1999. № 4. С. 392-394.

224. Саратиков А.С. и др. Гепатопротективные свойства полифенольных комплексов из древесины и клеточной культуры маакии амурской. Бюллетень сибирской медицины. 2008. №1.с. 51-55.

225. Ситников И.Г. и др. Эффективность применения комплекса гепатопротекторов - антиоксидантов у больных парентеральными гепатитами. Материалы XII Конгресса детских гастроэнтерологов России «Актуальные проблемы абдоминальной патоло-гии у детей», М.,2005, стр.370-371.

226. Смольякова В.И. и др. Антиокисдантные эффекты тиофана при экспериментальном поражении печени тетрахлорметаном. Бюллетень сибирской медицины. 2010; 5: 98-101.

227. Соколовская А.Н. Влияние лохеина на метаболизм печени при острой интоксикации, вызванной парацетамолом и Д-галактозамином. Бюллетень сибирской медицины. 2006; 3: 48-52.

228. Тюлина О.В. и др. Гистидинсодержащие дипептиды и форменные элементы крови. Проблемы гематологии; 2002; 4: 53-63.

229. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению фармакологических веществ. М., 2005.501с.

230. Хотимченко М.Ю., Сонина Л.Н. Эффективность альгината кальция при токсическом поражении печени у крыс. Pacific Medical Journal.2006. №4, с.27-31.

231. Чучалин В.С. и др. Роль стильбенов в механизмах гепатопротективных свойств полифенолов маакии амурской. Бюллетень сибирской медицины. 2010. №3.с. 101-105.

232. Шифман Е.М., Ершов А.Л. Парацетамол: терапевтическое применение и проблемы острых отравлений. Общая реаниматология. 2007. № 1.

233. Ярошенко И.Ф., Каланчина Т.Ю. Патогенез ишемии-реперфузии печени. Бюллетень Волгоградского научного центра РАМН. 2006; 29-34.

# Capitolul IV

# EFICACITATEA PREPARATELOR ENTOMOLOGICE ÎN TRATAMENTUL COMPLEX AL HEPATITELOR

Modul actual de viaţă (stresul, obezitatea, alimentaţia incorectă, hipodinamia, alcoolul, fumatul etc.) şi starea mediului ambiant pot fi unii din factorii de risc responsabili de dezvoltarea diferitor maladii ale organelor interne, inclusiv a bolilor hepatice cronice. După datele OMS în ultimele decenii se constată o creştere considerabilă a maladiilor cronice ale ficatului de diferită geneză (alcoolică, virală, metabolică, toxică, medicamentoasă etc.) cu un număr de peste 2 mlrd de bolnavi (Ткач С.М., 2009, Бакулин И.Г., Сандлер Ю.Г., 2010).

Tratamentul şi profilaxia maladiilor hepatice este una din problemele actuale ale medicinei. Etiologia afecţiunilor hepatice poate fi determinată de factori diverşi printre care virusurile, dereglările metabolice şi hormonale, acţiunea toxică a diferitor compuşi chimici: amine aromatice, solvenţi organici, alcoolul, medicamente (antituberculoase, analgezice, antiinflamatoare nesteroide, antiepileptice, citostatice, antibiotice, chimioterapice sintetice, amiodarona, antiretrovirale etc.). Tratamentul complex al maladiilor hepatice în conformitate cu concepţiile contemporane include două direcţii: terapia etiotropă şi patogenetică (Ткач С.М., 2009, Крамарев С.А., 2011). Terapia etiotropă prevede utilizarea preparatelor antivirale (interferonilor şi preparatelor sintetice) pentru inhibarea replicării agentului patogen şi accelerarea eliminării lui, sanarea organismului şi actualmente este aplicată în tratamentul hepatitelor virale. Terapia patogenetică are drept scop corecţia farmacologică a verigilor patogenetice universale ale patologiei hepatice cu folosirea grupelor diverse de medicamente, printre care hepatoprotectoarelor le revine rolul principal, datorită acţiunii selective asupra ficatului. Hepatoprotectoarele se consideră preparate capabile să crească rezistenţa hepatocitelor la acţiunea factorilor agresivi, să amplifice funcţia antitoxică şi să contribuie la restabilirea funcţiilor dereglate ale ficatului. Actualmente sub acest aspect sunt studiate un număr impunător de compuşi de diferită origine, care pretind să fie incluşi în grupa hepatoprotectoarelor (Венгеровский А.И., 2002, Новиков В.Е., Климкина Е.И., 2005, Оковитый С.В., Шуленин С.Н., 2006, Ткач С.М., 2009, Бакулин И.Г., Сандлер Ю.Г., 2010, Полунина Т.Е., Маев И.В., 2010, Крамарев С.А., 2011, Морозов С.В., Кучерявый Ю.А., 2011).

Studiul experimental şi clinic al preparatelor cu acţiune hepatoprotectoare de diferită origine constituie o direcţie actuală de cercetări ştiinţifice. Deşi medicina practică actualmente se confruntă în mare parte cu hepatitele virale, afecţiunile toxice ale ficatului, provocate de xenobiotice, inclusiv medicamente, constituie o pondere considerabilă în maladiile hepatice. Leziunile hepatice induse de medicamente sunt în plină creştere (Grigorescu T., 2004). Circa 15-30% din insuficienţa hepatică fulminantă este produsă de medicamente, iar la pacienţii peste 50 ani ca în 40% cazuri va fi provocată de preparatele medicamentoase. Afecţiunile hepatice toxice medicamentoase sunt în plină ascensiune constituind în diferite zone geografice o creştere de 2-11 ori fie prin lărgirea spectrului de medicamente utilizate, fie prin depistarea lor mai frecventă (Grigorescu T., 2004; Куценко С.А., 2002, Оковитый С.В., Шуленин С.Н., 2006). Leziunile ficatului se pot manifesta prin sindromul de citoliză (necroză centrolobulară), colestază, imunoinflamator, diminuarea funcţiei detoxicante şi de sinteză.

Actualmente tot mai variate devin sursele de obţinere a unor medicamente noi de o eficacitate mai înaltă şi o inofensivtate mai redusă, capabile să influenţeze asupra factorilor etiologici şi mecanismelor patogenetice cheie ale maladiilor şi stărilor patologice. Aceasta se poate realiza prin elucidarea mecanismelor fiziologice şi patofiziologice, care permit de a acţiona ţintit şi selectiv asupra verigilor patogenetice sau a potenţa mecanismele endogene de protecţie a organismului. În acest context produsele entomologice reprezintă o direcţie absolut nouă a industriei farmaceutice, un domeniu important de studiu experimental şi clinic pentru obţinerea şi implementarea în medicină a preparatelor de această provenienţă (M. Ciuhrii 1999, 2002, Chernysh S et al., 2002, 2004, Ершов Ф.И. и др., 2008). Interesul faţă de insecte şi produsele obţinute la diferite etape de dezvoltare a lor se datorează unei game importante de efecte ce li se atribuie: antimicrobian, antimicotic, antiviral, antioxidant, hepatoprotector, imunomodulator, antiinflamator, antitumoral etc. (Otvos L.Jr., 2000, Chernysh S et al., 2002, 2004, Ryu M.J. et al., 2008, Ершов Ф.И. и др., 2008)

## 4.1 Particularităţile tratamentului complex al hepatitelor virale cronice

Hepatitele virale reprezintă o problemă medicală şi socio-economică de importanţă mondială prin morbiditatea şi mortalitatea înaltă în pofida succeselor în elucidarea etiopatogenezei, diagnosticului şi tratamentului. Situaţia epidemiologică în lume detestă o creştere permanentă a numărului de persoane infectate, diagnosticate şi decedate din cauza infecţiilor cu virusurile hepatice. O pondere deosebită o constituie hepatitele induse de virusurile B, C şi D, precum şi infecţiile mixte. Astfel, circa 2 miliarde din populaţie s-a infectat într-un anumit moment cu virusul hepatic B, iar la 350-500 milioane persistă o infecţie cronică. Incidenţa infecţiei cu virusul hepatic B, în mare parte, depinde de zonele geografice, constituind de la 0,5% până la 20%. Destul de semnificative sunt şi consecinţele hepatitelor virale acute şi cronice cu virusul hepatic B, printre care ciroza hepatică (incidenţa de 8-20%), cancerul hepatic (incidenţa 2,5%), care sunt responsabile de circa 0,5-1 milion de decese anual (Dumbrava V. şi coaut., 2005, 2010, Pântea V. 2009, Prisacari V.şi coaut., 2010, Ghinda S.

şi coaut.2010, Pântea V., 2011, Скляр Л.Ф. и др., 2005, Малый В.П., Гололобова О.В., 2007, Редькин Ю.В., Дронь Е.В., 2007. Гончикова С.Ч.и др., 2010, Бакулин И.Г., Сандлер Ю.Г., 2010, Кельцев В.А., Чурбакова О.В., 2011).

Hepatita virală C afectează actualmente circa 170-200 milioane persoane cu o creştere anuală de circa 3-4 milioane de cazuri noi. Problema majoră în infecţia acută cu virusul hepatic C o prezintă formele asimptomatice, depistate ocazional în cadrul unor investigaţii de rutină sau ca urmare a unei simptomatologii polimorbide. Din aceste considerente incidenţa formelor acute se estimează a fi de 1-3 cazuri la 100000 populaţie (Dumbrava V. şi coaut., 2005, 2010, Pântea V., 2009, Ghinda S. şi coaut.2010, Pântea V., 2011, Бакулин И.Г., Сандлер Ю.Г., 2010)

Infecţia cu virusul hepatic D este cel mai frecvent asociată cu virusul hepatic B, incidenţa fiind în mediu de circa 30%, iar tabloul real este destul de variat în dependenţă de zonele geografice (de la 0,5% chiar până la 50%). Morbiditatea cu virusul hepatic D+B prevalează la toxicomani prin administrarea parenterală a drogurilor (Ghinda S. şi coaut., 2010, Pântea V., 2011).

Hepatitele virale cronice reprezintă o problemă stringentă în pediatrie, constituind circa 70-80% din copiii şi adolescenţii infectaţi cu virusurile B şi C (Лобзин Ю.В. и др., 2010, Кельцев В.А., Чурбакова О.В., 2011).

Situaţia epidemiologică în Republica Moldova referitor la incidenţa hepatitelor virale este îngrijorătoare, constituind o zonă endemică cu virusurile B, C şi D. Astfel, în ultimii 20 ani numărul pacienţilor cu hepatită virală cronică B, ciroză hepatică şi hepatocarcinom s-a dublat, anual înregistrându-se circa 7000 cazuri noi (Ghinda S. şi coaut., 2010). În Republica Moldova se detestă o incidenţă de circa 13% de purtători cu virusul hepatic B. Incidenţa hepatitei virale C acute se estimează la 1-3 cazuri la 100000 populaţie, în timp ce infecţia cronică predomină din cauza formelor asimptomatice. La circa 17,6-20,4% din donatorii de sânge din republică s-a depistat anti-VHD sumar (Dumbrava V. şi coaut., 2005, 2010, Pântea V. 2009, Prisacari V. şi coaut., 2010, Pântea V., 2011).

Studiile clinice, de determinare a eficacităţii preparatelor entomologice în tratamentul complex al hepatitelor virale cronice (HVC) au fost efectuate în secţia hepatologie a Spitalului Clinic Republican sub conducerea dr.hab.med., profesor universitar V. Dumbarava. În studiu au fost incluşi 80 pacienţi cu hepatite virale cronice (B şi C), care au fost subdivizaţi în patru loturi a câte 20 bolnavi: I – martor, urmau tratamentul standard; II – suplimentau tratamentul standard cu entoheptin, câte 1 capsulă a câte 150 mg 2 ori/zi până la mese, timp de 3 luni; III – foloseau de rând cu tratamentul standard imuheptin câte 2 capsule a câte 150 mg o dată în zi, peste 2–3 ore după cină, timp de 3 luni; IV – administrau pe lângă tratamentul standard imupurin câte 2 capsule a câte 150 mg o dată în zi, peste 2–3 ore după cină, timp de 3 luni. Din studiu au fost excluşi pacientele gravide şi bolnavii cu hemoragii gastrointestinale, ulcer gastric şi duodenal, agranulocitoză, precum şi cei cărora li se administra prednisolon, preparatele interferonilor, hepatoprotectoare şi imunomodulatoare.

Pacienţii au fost investigaţi conform programului unic până la tratament şi după (3 luni) prin următoarele metodele de cercetare: examenul clinic; examenul paraclinic (AlAT, AsAT; fosfataza alcalină (FAl); gama-glutamil transpeptidaza (GGTP); bilirubina totală; proteinele totale; protrombina; dialdehida malonică (DAM); complexele imune circulante (CIC); imunoglobulinele (IgA, IgM, IgG); markerii hepatitelor virale B, C şi D). Loturile pacienţilor examinaţi au fost comparabile după vârsta şi durata maladiei.

Examinarea clinică a pacienţilor din lotul I (martor) la începutul tratamentului a relevat prezenţa sindromului asteno-vegetativ (fatigabilitate, ameţeli, labilitate emoţională tulburări ale somnului) la 12 bolnavi, algic (dureri sub rebordul costal drept) la 20 pacienţi şi dispeptic (inapetenţă, meteorism, greţuri) la 11 bolnavi. Manifestarea sindroamelor nominalizate la pacienţii din loturile II, III şi IV era în general similară cu cel de control (tab.4.1.1).

Monitorizarea tabloului clinic după 3 luni la pacineţii din lotul martor a relevat o ameliorare până la dispariţie a sindromului asteno-vegetativ la 50% bolnavi, algic - la 60% şi dispeptic – la 45,5%. La pacienţii ce au urmat tratament complex cu preparatele entomologicce s-a constatat o evoluţie mai benefică a tabloului clinic. Astfel, farmacoterapia complexă cu entoheptin a determinat dispariţia sindromului asteno-vegetativ la 75%, algic – la 71,4% şi dispeptic la 66,6%, cu imuheptin respectiv la 71,7%, 72,7% şi 80%, iar cu imupurin – la 64,7%, 68,2% şi 53,3% (tab.4.1.1).

*Tabelul 4.1.1*

**Eficacitatea clinică a entoheptinului, imuheptinului şi imupurinului în tratamentul complex al pacienţilor cu hepatite virale cronice (n= 20)**

| Loturile de pacienţi | Sindromul asteno-vegetativ | | Sindromul algic | | Sindromul dispeptic | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | până la tratament | după tratament | până la tratament | după tratament | până la tratament | după tratament |
| Lotul I – tratament standard | 12 | 6 (50%) | 20 | 12 (60%) | 11 | 5 (45,5%) |
| Lotul II – tratament standard +entoheptin | 15 | 11 (75%) | 14 | 10 (71,4) | 12 | 8 (66,6%) |
| Lotul III – tratament standard + imuheptin | 14 | 10 (71,4%) | 11 | 8 (72,7%) | 15 | 12 (80%) |
| Lotul IV –tratament standard + imupurin | 17 | 11 (64,7%) | 13 | 9 (69,2%) | 15 | 8 (53,3%) |

La toţi pacienţii din lotul martor s-a depistat hepatomegalia, care după tratament s-a normalizat la 4 (20%), iar la 12 (60%) dimensiunile ficatului s-au micşorat. Tratamentul complex cu entoheptin a contribuit la regresia hepatomegaliei, dar fără a atinge dimensiunile normale. În lotul cu imuheptin hepatomegalia s-a constatat la 17 (85%) bolnavi, iar farmacoterapia a determinat revenirea la normă a ficatului la 4 (23,5%) pacienţi în timp ce la restul (76,5%) s-a depistat diminuarea dimensiunilor ficatului. Examinarea clinică a bolnavilor din lotul ce urmau să efectueze tratamentul cu imupurin a relevat prezenţa hepatomegaliei la 18 (90%) din aceştea. La finele tratamentului dimensiunile ficatului s-au normalizat la 3 (16,6%), iar la restul s-au micşorat.

Analiza rezultatelor obţinute ne relevă că imuheptinul a manifestat cea mai înaltă eficacitate, fiind urmat de entoheptin şi apoi de umupurin. În aceste condiţii toate preparatele entomologice au contribuit la o ameliorare mai efectivă a tabloului clinic decât la pacienţii din lotul I.

În tabelul 4.1.2 este prezentată dinamica activităţii transaminazelor şi raportului de Ritis până şi după tratamentul complex cu preparatele entomologice. Studiul activităţii transaminazelor la pacienţii ce au urmat tratamentul standard a demonstrat o diminuare a activităţii AlAT de la 1,63±0,09 la 1,26±0,13 mmol/hl ($P > 0,05$) şi AsAT de la 1,08±0,24 la 0,86±0,12 mmol/hl ($P > 0,05$). În aceste condiţii raportul de Ritis n-a suferit modificări – 0,66 până la tratament versus 0,68 după. Tratamentul complex cu entoheptin a contribuit la micşorarea activităţii AlAT de 2,3 ori (de la 2,4 ± 0,55 la 1,03 ± 0,22 mmol/hl, $P < 0,05$ ), iar a AsAT – de 1,5 ori (de la 1,2 ± 0,27 la 0,8 ± 0,25 mmol/hl, $P < 0,05$), fapt ce a determinat majorarea raportului de Ritis de la 0,5 la 0,78. Efecte similare s-au constatat şi la pacienţii ce au suplimentat tratamentul standard cu imuheptin. În acest caz activitatea AlAT s-a redus de 2,6 ori (de la 2,11±0,46 la 0,8 ± 0,24 mmol/hl, $P < 0,05$), iar a AsAT – de 1,8 ori (de la 1,15±0,22 la 0,63±0,1 mmol/hl, $P < 0,05$) ceea ce a contribuit la majorarea coeficientului de Ritis de la 0,54 la 0,79. La pacienţii ce au urmat tratamentul cu imupurin s-a relevat o diminuare a activităţii AlAT de 2,1 ori (de la 1,92 ± 0,16 la 0,89 ± 0,18 mmol/hl, $P < 0,05$), AsAT - de 2 ori (de la 1,49 ± 0,26 la 0,71 ± 0172 mmol/hl, $P < 0,05$), fără modificări esenţiale ale raportului de Ritis (0,77 versus 0,8). Datele obţinute ne permit să constatăm că preparatele entomologice au influenţat benefic asupra sindromului de citoliză cu micşorarea mai accentuată a activităţii AlAT şi majorarea raportului de Ritis.

Examinarea pacienţilor din grupele incluse în studiu ne-a relevat un sindrom uşor de colestază. Tratamentul standard timp de 3 luni a contribuit la micşorarea nivelului bilirubinei totale de la 18,48±1,6 până la 14,6 ±1,45 mcmol/l ($P > 0,05$), a activităţii fosfatazei alcaline de la 2900±192 până la 2650±185 mmol/s-l ($P > 0,05$) şi a GGTP – de la 2,68 ± 1,3 până la 2,2 ± 1,22 mmol/s-l ($P > 0,05$). Includerea entoheptinului în tratamentul complex timp de 3 luni a determinat o diminuare a conţinutului bilirubinei totale de la 27,8 ± 6,8 până la 22,7 ±7,5 mmol/s-l ($P > 0,05$) şi o reducere a activităţii FAl de la 2384±137 până la 2180±167 mmol/s-l ($P > 0,05$) şi a GGTP – de la 1,77 ± 0,35 până la 1,3 ± 0,19 mmol/s-l ($P > 0,05$). Farmacoterapia complexă cu imuheptin şi imupurin a determinat o normalizare a concentraţiei bilirubinei totale cu o micşorare nesemnificativă a acitivităţii FAl şi GGTP (tab.4.1.3).

*Tabelul.4.1.2.*

**Influența entoheptinului, imuheptinului și imupurinului asupra activității AlAT, AsAT și raportului de Ritis la pacienții cu hepatite virale cronice (n= 20)**

| Loturile de pacienți | AlAT (mmol/hl) | | AsAT (mmol/hl) | | Raportul de Ritis | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | până la tratament | după tratament | până la tratament | după tratament | până la tratament | după tratament |
| Lotul I – tratament standard | 1,63 ± 0,09 | 1,26 ± 0,13<br>P > 0,05 | 1,08 ± 0,24 | 0,86 ± 0,12<br>P > 0,05 | 0,66 | 0,68 |
| Lotul II – tratament standard + entoheptin | 2,4 ± 0,55 | 1,03 ± 0,22<br>P < 0,05 | 1,2 ± 0,27 | 0,8 ± 0,25<br>P < 0,05 | 0,5 | 0,78 |
| Lotul III – tratament standard + imuheptin | 2,11 ± 0,46 | 0,8 ± 0,24<br>P < 0,05 | 1,15 ± 0,22 | 0,63 ± 0,1<br>P < 0,05 | 0,54 | 0,79 |
| Lotul IV – tratament standard + imupurin | 1,92 ± 0,16 | 0,89 ± 0,18<br>P < 0,05 | 1,48 ± 0,26 | 0,71 ± 0,17<br>P < 0,05 | 0,77 | 0,8 |

*Tabelul. 4.1.3.*

**Influența entoheptinului, imuheptinului și imupurinului asupra activității fosfatazei alcaline, gama-glutamiltranspeptidazei și nivelului bilirubinei totale la pacienții cu hepatite virale cronice (n= 20)**

| Loturile de pacienți | FAl (mmol/s-l) | | GGTP (mmol/s-l) | | Bilirubina totală (mcmol/l) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | până la tratament | după tratament | până la tratament | după tratament | până la tratament | după tratament |
| Lotul I – tratament standard | 2900±192 | 2650±185<br>P > 0,05 | 2,68 ± 1,3 | 2,2 ± 1,22<br>P > 0,05 | 18,48±1,6 | 14,6 ±1,45<br>P > 0,05 |
| Lotul II – tratament standard + entoheptin | 2384±137 | 2180±167<br>P > 0,05 | 1,77 ± 0,35 | 1,3 ± 0,19<br>P > 0,05 | 27,8 ± 6,8 | 22,7 ±7,5<br>P > 0,05 |
| Lotul III – tratament standard + imuheptin | 2841±258 | 2200±173<br>P > 0,05 | 2,43 ± 0,44 | 1,54 ± 0,19<br>P > 0,05 | 22,94 ±2,31 | 18,2 ±1,45<br>P < 0,05 |
| Lotul IV –tratament standard + imupurin | 3010±269 | 2640±198<br>P > 0,05 | 2,5 ± 0,39 | 1,9 ± 0,2<br>P > 0,05 | 24,1 ±1,9 | 19,5 ±1,6<br>P < 0,05 |

Pentru aprecierea funcției sintetice a ficatului, importantă pentru evoluția afecțiunilor hepatice cronice, s-a determinat modificarea nivelului proteinelor totale și protrombinei, care la pacienții examinați s-au dovedit a fi la limitele de jos ale normei. Astfel, după tratamentul complex timp de 3 luni conținutul proteinelor totale s-a majorat în cazul entoheptinului de la 75,1 ± 2,5 până la 80,0 ± 1,15 g/l , a imuheptinului de la 71,13± 2,3 până la 79,6 ± 2,6 g/l și imupurinului de la 70,6 ± 2,7 până la 74,8 ± 1,9 g/l. În același timp nivelul protrombinei a crescut după administrarea entoheptinului de la 80,36 ± 4,02 până la 84,0 ± 2,6%, imuheptinului de la 86,9 ± 4,6 până la 90,3 ± 3,84% și imupurinului de la 70,6 ± 2,7 până la 74,8 ± 1,9%. Rezultatele obținute denotă o ameliorare a funcției sintetice a ficatului de rând cu diminuarea sindromului de citoliză și colestază.

Dinamica conținutului DAM în ser la pacienții cu hepatite virale cronice până și după tratament este prezentată în tabelul 4.1.4. Tratamentul standard timp de 3 luni a determinat o diminuare a nivelului DAM de la 7,2 ± 0,1 până la 6,9 ± 0,13 nmol/l (P > 0,05). În același timp farmacoterapia complexă a pacienților cu hepatite virale cronice prin suplimentarea preparatelor entomologice s-a soldat cu o micșorare veridică a conținutului DAM în cazul entoheptinului de la 6,67 ± 0,19 până la 5,97 ± 0,1 nmol/l (P < 0,05), imuheptinului – de la 6,47 ± 0,23 până la 5,9±0,19 nmol/l (P < 0,05) și imupurinuluiu de la 7,1 ±0,31 până la 6,01±0,19 nmol/l (P < 0,05). Diminuarea proceselor de peroxidare a lipidelor, relevată prin micșorarea nivelului DAM, poate fi cauzată de antioxidanții hidrosolubili ce se conțin în preparatele entomologice, precum și prin complexul de aminoacizi ce pot contribui la sinteza unor substraturi endogene (GSH, S-adenozil metionină etc.) și la creșterea potențialului antioxidant al hepatocitelor.

La pacienții cu hepatite virale cronice s-a cercetat nivelul complexelor imunocirculante și imunoglobulinelor (IgA, IgM, IgG), reieșind din faptul că la preparatele entomologice, îndeosebi la imupurin și imuheptin, s-au depistat proprietăți imunotrope (Pogonea I., 2009, Bacinschi N., 2010). După cura de tratament s-a constatat capacitatea imupurinului și imuheptinului de a reduce conținutul complexelor imunocirculante respectiv de la 198,0 ± 18,0 până la 97,0 ± 11,2 U (P < 0,05) și de la 204,8 ± 23,9 până la 137,0 ± 21,2 U (P < 0,05). Studiul concentrației IgA a arătat că aceasta era în limitele normei, dar pe parcursul tratamentului cu preparatele entomologice manifesta o tendință spre micșorare (tab.4.1.5). Concomitent, la examinarea inițială în loturile ce urmau să administreze imupurin și imuheptin s-a constatat o majorare ușoară a IgG și IgM. Tratamentul timp de 3 luni cu imupurin și imuheptin a contribuit la micșorarea nivelului IgG și IgM. Astfel, imupurinul a redus conținutul IgG de la 22,1 ± 1,9 până la 19,87 ± 1,7 g/l (P > 0,05) și a IgM de la 2,5 ± 0,54 până la 2,21 ± 0,18 g/l (P > 0,05), iar imuheptinul – IgG de la 20,77 ± 2,31 până la 19,1 ± 1,5 g/l (P > 0,05) și IgM de la 2,25 ± 0,54 până la 2,1 ± 0,14 g/l (P > 0,05).

*Tabelul 4.1.4*

**Influenţa entoheptinului, imuheptinului şi imupurinului asupra nivelului DAM la pacienţii cu hepatite virale cronice (n= 20)**

| Loturile de pacienţi | DAM (nmol/l) | |
|---|---|---|
| | până la tratament | după tratament |
| Lotul I – tratament standard | 7,2 ± 0,1 | 6,9 ± 0,13<br>P > 0,05 |
| Lotul II – tratament standard + entoheptin | 6,67 + 0,19 | 5,97 ± 0,1<br>P < 0,05 |
| Lotul III – tratament standard + imuheptin | 6,47 ± 0,23 | 5,9 + 0,19<br>P < 0,05 |
| Lotul IV –tratament standard + imupurin | 7,1 ±0,31 | 6,01 ± 0,19<br>P < 0,05 |

*Tabelul 4.1.5*

**Influenţa entoheptinului, imuheptinului şi imupurinului asupra nivelului complexelor imunocirculante şi imunoglobulinelor la pacienţii cu hepatite virale cronice (n= 20)**

| Parametrii imunologici | tratament standard + imuheptin | | tratament standard + imupurin | |
|---|---|---|---|---|
| | până la tratament | după tratament | până la tratament | după tratament |
| Complexele imunocirculante (U) | 204,8 ± 23,9 | 137,0 ± 21,2<br>P > 0,05 | 198,0 ± 18,0 | 97,0 ± 11,2<br>P < 0,05 |
| IgA (g/l) | 3,6 ± 0,11 | 3,1 ± 0,2<br>P > 0,05 | 3,8 + 0,2 | 3,18 ± 0,3<br>P > 0,05 |
| IgM (g/l) | 2,25 ± 0,54 | 2,1 ± 0,14<br>P > 0,05 | 2,5 ± 0,54 | 2,21 ± 0,18<br>P > 0,05 |
| IgG (g/l) | 20,77 ± 2,31 | 19,1 ± 1,5<br>P > 0,05 | 22,1 ± 1,9 | 19,87 ± 1,7<br>P > 0,05 |

## Rezultatele studiului clinic ne-au permis să tragem următoarele concluzii:

1. Includerea preparatelor entomologice în tratamentul complex al pacienţilor cu hepatite virale cronice a contribuit la o ameliorare mai rapidă şi mai marcată a tabloului clinic (sindroamele clinice au dispărut la 10-35% din pacienţi, mai mult decât în lotul martor, dimensiunile ficatului s-au normalizat la circa 20%, iar la restul se diminuau esenţial).

2. Tratamentul complex al bolnavilor cu hepatite virale cronice cu imuheptin, entoheptin şi imupurin a determinat o anihilare semnificativă a sindromului citolitic moderat, dar fără normalizare definitivă, fapt ce ne sugerează necesitatea continuării tratamentului mai mult de 3 luni.

3. La bolnavii cu hepatite virale cronice s-a constatat un sindrom uşor de colestază care s-a normalizat în cazul tratamentului complex cu imuheptin şi imupurin.

4. Preparatele entomologice, datorită antioxidanţilor hidrosolubili din componenţă, au manifestat o capacitate mai mare de diminuare a proceselor de peroxidare a lipidelor (micşorarea DAM).

5. Farmacoterapia complexă a pacienţilor cu hepatite virale cronice cu entoheptin, imuheptin şi imupurin a determinat o amplificare a funcţiei sintetice a ficatului relevată prin majorarea nivelului proteinelor totale şi protrombinei, posibil datorită conţinutului bogat de proteine şi gamei variate de aminoacizi esenţilai şi non-esenţiali.

6. Imupurinul şi imuheptinul, datorită proprietăţilor imunotrope, au contribuit la modularea parametrilor sistemului imun, îndeosebi prin micşorarea complexelor imunocirculante şi imunoglobulinei G cu restabilirea imunităţii celulare T.

## 4.2 Particularităţile tratamentului complex al hepatitelor de diferită geneză

Studiile clinice de determinare a eficacităţii preparatelor entomologice în tratamentul complex al hepatitelor cronice de diferită geneză au fost efectuate în secţia gastrologie a Spitalului Clinic al Ministerului Sănătăţii sub conducerea dr.hab.med., profesor universitar I.Butorov. În studiu au fost incluşi 72 pacienţi cu hepatite cronice virale, toxice şi de etiologie neidentificată. Pacienţii au fost investigaţi conform programului unic până la tratament şi după (3–6 luni) prin următoarele metodele de cercetare: examenul clinic general; examenul paraclinic (analiza generală a sângelui şi trombocitelor; proba cu timol; AlAT, AsAT; bilirubina totală; protrombina; β-lipoproteinele; fosfataza alcalină; glucoza sângelui; imunograma; proteinograma). Pacienţii au fost subdivizaţi în patru loturi: I – martor, urmau tratamentul standard; II - suplimentau tratamentul standard cu imuheptin câte 2 capsule a câte 150 mg o dată în zi, la 2–3 ore după cină, timp de 3–6 luni; III – foloseau de rând cu tratamentul standard imupurin câte 2 capsule a câte 150 mg o dată în zi, la 2–3 ore după cină, timp de 3–6 luni; IV – administrau pe lângă tratamentul standard entoheptin câte 1 capsulă a câte 150 mg 2 ori/zi până la mese timp de 3-6 luni. Loturile pacienţilor examinaţi au fost comparabile după vârsta (ani) şi maladiei.

Studiile efectuate au demonstrat că la utilizarea entoheptinului, imuheptinului şi imupurinului în tratamentul complex al hepatitelor de diferită etiologie s-a constatat dispariţia sau micşorarea sindromului asteno-vegetativ la a 7-10-a zi, în timp ce în lotul martor acesta s-a anihilat la 15-a zi. Sindromul algic, pe fundal de tratament cu preparatele entomologice, s-a micşorat către a 8-a – 9-a zi de tratament şi s-a jugulat complet (în 80% cazuri) către a 9,0 ± 0,5 zi, pe când în lotul martor sindromul algic s-a micşorat şi a dispărut cu 2-3 zile mai târziu doar în 50% cazuri (termenul mediu de jugulare – 11,0 ± 1,3 zile). Sindromul dispeptic a regresat, având durata medie de jugulare 8,5±0,3 zile la imupurin şi 9,5±0,5 zile la imuheptin, iar în lotul martor – 11,0 ± 0,5 zile.

Includerea imuheptinului, imupurinului și entoheptinului în tratamentul complex s-a soldat cu ameliorarea stării subiective, fiind apreciată în 90-100% cazuri ca bună sau satisfăcătoare în comparație cu 75% în lotul martor (tab.4.2.1).

La cercetarea indicilor biochimici s-a relevat că după 4-5 săptămâni de tratament complex cu entoheptin, imuheptin și imupurin s-au micșorat semnificativ activitatea aminotransaminazelor (AlAT, AsAT) și nivelul bilirubinei totale în comparație cu lotul martor (tab. 4.2.2). Activitatea transaminazelor s-a normalizat

*Tabelul 4.2.1*

**Eficacitatea clinică a entoheptinului, imuheptinului și imupurinului în tratamentul complex al pacienților cu hepatite cronice de diferită etiologie**

| Eficacitatea | Lotul I – tratament standard (n= 12) | Lotul II – tratament standard + imuheptin (n=20) | Lotul III – tratament standard + imupurin (n=20) | Lotul IV –tratament standard + entoheptin (n=20) |
|---|---|---|---|---|
| Bună | 3 (25%) | 4 (20%) | 4 (20%) | 4 (20%) |
| Satisfăcătoare | 6 (50%) | 16 (80%) | 14 (70%) | 15 (75%) |
| Nesatisfăcătoare | 3 (25%) | - | 2 (10%) | 1 (5%) |

*Tabelul 4.2.2.*

**Influența entoheptinului, imuheptinului și imupurinului asupra activității AlAT, AsAT, raportului de Ritis și nivelului bilirubinei totale în tratamentul complex al pacienților cu hepatite cronice de diferită etiologie**

| Grupele de pacienți | | AlAT (mmol/hl) | AsAT (mmol/hl) | Raportul de Ritis | Bilirubina totală (mcmol/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| Lotul I – tratament standard (n= 12) | până la tratament | 1,81 ± 0,2 | 1,48 ± 0,2 | 0,82 | 47,5 ± 0,5 |
| | după tratament | 1,52 ± 0,3 | 1,39 ± 0,4 | 0.94 | 46,4 + 0,6 |
| Lotul II – tratament standard + imuheptin (n=20) | până la tratament | 2,35 ± 0,5 | 2,28 ± 0,6 | 0.97 | 72,5 ± 2,3 |
| | după tratament | 1,87+ 0,2* | 1,23 ± 0,5* | 0,65 | 34,5 ± 1,8* |
| Lotul III – tratament standard + imupurin (n=20) | până la tratament | 2,15 ± 0,2 | 2,08 ± 0,3 | 0,96 | 62,5 ± 0,5 |
| | după tratament | 1,42± 0,3* | 1,22 + 0,4* | 0.86 | 31,4 + 0,3* |
| Lotul IV – tratament standard + entoheptin (n=20) | până la tratament | 1,78 ± 0,1 | 1,52 ± 0,1 | 0,87 | 58,6 ± 0,5 |
| | după tratament | 1,18+ 0,2* | 1,08 ± 0,1* | 0,9 | 31,3± 0,5* |

* Diferențele indicilor până și după tratament sunt statistic veridice

la 75% pacienți ce au administrat imuheptin, la 85% ce au luat imupurin și la 95% ce au folosit entoheptin spre sfârșitul curei de tratament, în timp ce în lotul martor normalizarea acestor indici a fost semnalată în doar 45% din cazuri. Analiza raportului de Ritis ne-a relevat că la bolnavii din lotul martor acesta a crescut de la 0,82 până la 0,94 datorită diminuării mai importante a activității AlAT față de AsAT. Includerea imuheptinului și imupurinului în tratamentul complex al pacienților a contribuit la micșorarea raportului de Ritis respectiv de la 0,97 până la 0,65 și dela 0,96 până la 0,86, datorită reducerii mai accentuate a activității AsAT. În aceste condiții entoheptinul, prin diminuarea uniformă a activității AsAT și AlAT, practic n-a modificat raportul de Ritis (tab.4.2.2)

Suplimentarea imuheptinului, imupurinului și entoheptinului la tratamentul standard a contribuit la micșorarea nivelului bilirubinei totale (respectiv de la 72,5±2,3 până la 34,5±1,8, de la 62,5±0,5 până la 31,4±0,3 și de la 58,6±0,5 până la 31,3±0,5 mmol/L; P<0,05), în timp ce la pacienții din lotul martor el a rămas practic nemodificat (tab. 4.2.2).

În lotul martor concentrația creatininei nu se modifica pe parcursul tratamentului, iar administrarea imuheptinului, imupurinului și entoheptinului manifesta o tendință de micșorare respectiv de la 93,0 ±2 ,2 până la 89,5 ± 3,7, de la 90,0±2,4 mmol/l până la 85,5±3,5 și de la 92,0 ± 2,4 până la 89,5± 3,7 mmol/l (P>0,05). Atât în lotul martor, cât și în cele cu imuheptin, imupurin și entoheptin nu s-au depistat modificări esențiale ale conținutului glucozei, colesterolului și trigliceridelor (tab.4.2.3). Concomitent analiza detaliată a spectrului lipidic până la inițierea tratamentului cu preparatele entomologice a depistat la pacienții cu hepatite cronice se constatata următoarele dereglări: majorarea cu 31,4% a lipidelor totale; cu 23,5% a trigliceridelor; cu 29,8% a lipoproteidelor de densitate joasă (LDL); diminuarea cu 33,1% a lipoproteidelor de densitate înaltă (HDL). Tratamentul cu imuheptin, imupurin și entoheptin a contribuit la ameliorarea semnificativă a parametrilor metabolismului lipidic. Astfel, conținutul lipidelor totale s-a micșorat respectiv cu 22%, 25% și 15%, (în lotul martor – cu 3%); al lipoproteidelor LDL - cu 17,5%, 25% și 19% (lotul martor – cu 8%). Concomitent, tratamentul cu preparatele entomologice, în comparație cu tratamentul standard, a contribuit la majorarea nivelului lipoproteidelor HDL de la 39,5mg% până la 58,5 mg% (cu 48,1% P<0,05 ) la folosirea entoheptinului, în cazul imuheptinului de la 40,2 mg% până la 58,0 mg% (cu 44 %, p<0,05), a imupurinului de la 38,5mg% până la 52,5 mg% (cu 38,2% P<0,05 ).

Un compartiment important al studiului eficacității clinice l-a constituit analiza parametrilor imunității umorale și celulare la pacienții cu hepatite cronice de diferită etiologie (tab.4.2.4). Astfel, în comparație cu persoanele sănătoase în loturile de studiu s-a determinat o scădere a limfocitelor T, limfocitelor T helperi/inductori și T helperi/supresori, limfocitelor T citotoxice și limfocitelor B. Includerea imuheptinului în tratamentul complex al acestor pacienți a determinat creșterea limfocitelor T de la 55,0 ± 0,4% până la 63,0 ± 0,2%, (P<0,05), limfocitelor T helperi/inductori de la 25,0 ± 0,3%, până la 39,0 ± 0,2% ($P<0{,}05$), limfocitelor T citotoxice de la 18,0 ± 0,3% până la 25,0 ± 0,2%, ($P<0{,}001$) şi limfocitelor B de la 13,0 ± 0,5% până la 20,0 ± 0,4%, ($P<0{,}001$). Pe parcursul tratamentului cu imupurin s-a observat ameliorarea verigii celulare a sistemului imunitar, cu creşterea: limfocitelor T de la 53,0 ± 0,3% până la 62,0 + 0,2%, ($P<0{,}001$); T-helperi/inductori de la 25,5 ± 0,2 până la 38,0 ± 0,1, ($P<0{,}001$); limfocitelor T citotoxice de la 18,5 ± 0,3% până la 25,0 ± 0,3%,($P<0{,}001$); limfocitelor B de la 11,5 ± 0,2% până la 18,5 ± 0,1%, ($P<0{,}001$).

*Tabelul 4.2.3.*

**Influenţa entoheptinului, imuheptinului şi imupurinului asupra dinamicii nivelului glucozei, creatininei, colesterolului şi trigliceridelor în tratamentul complex al pacienţilor cu hepatite cronice de diferită etiologie**

| **Grupele de pacienţi** | | Glucoza (mmol/l) | Creatinina (mmol/l) | Colesterolul (mmol/l) | Trigliceridele (mmol/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| Lotul I – tratament standard (n= 12) | până la tratament | 4,49+ 0,38 | 93,0 ± 2,5 | 4,90 ± 0,7 | 1,80 ± 0,3 |
| | după tratament | 4,38 ± 0,5 | 92,5 + 3,0 | 4,83 ± 0,6 | 1,75 + 0,4 |
| Lotul II – tratament standard + imuheptin (n=20) | până la tratament | 4,45 ± 0,4 | 93,0 ±2 ,2 | 3,15 ± 0,7 | 1,52 ± 0,2 |
| | după tratament | 4,34 + 0,3 | 89,5 ± 3,7 | 3,0 + 0,6 | 1,58 ± 0,4 |
| Lotul III – tratament standard + imupurin (n=20) | până la tratament | 4,55 ± 0,4 | 90,0 ±2 ,4 | 3,0 ± 0,7 | 1,53 ± 0,4 |
| | după tratament | 4,45 ± 0,3 | 85,5 + 3,5 | 3,18 ± 0,6 | 1,50 + 0,3 |
| Lotul IV – tratament standard + entoheptin (n=20) | până la tratament | 4,46 ± 0,4 | 92,0 ±2 ,4 | 3,16 ± 0,5 | 1,61 ± 0,1 |
| | după tratament | 4,33 + 0,3 | 89,5 ± 3,7 | 3,45 + 0,3 | 1,69 ± 0,3 |

*Tabelul 4.2.4*

**Influenţa imuheptinului şi imupurinului asupra dinamicii procentului limfocitelor şi nivelului imunoglobulinelor în tratamentul complex al pacienţilor cu hepatite cronice de diferită etiologie**

| Parametrii statusului imun | Persoanele sănătoase | Imuheptin | | Imupurin | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | până la tratament | după tratament | până la tratament | după tratament |
| limfocitele-T (%) | 67,0±0,5 | 55,0±0,4 | 63,0±0,2* | 53,0±0,3 | 62,0+0,2* |
| limfocite T-helperi/inductori (%) | 38,3±015 | 25,0+0,2 | 39,0±0,2* | 25,5±0,2 | 38,0±0,1* |
| limfocite-T citotoxice (%) | 27,7±0,28 | 18,0±0,3 | 25,0±0,2* | 18,5±0,3 | 25,0±0,3* |
| limfocitele-B (%) | 21,0±0,3 | 13,0±0,5 | 20,0±0,4* | 11,5±0,2 | 18,5±0,1* |
| IgA (g/l) | 3,23±0,2 | 3,68±0,1 | 3,11±0,4 | 3,8±0,2 | 3,18±0,3 |
| IgM (g/l) | 1,45±0,05 | 2,12±0,2 | 1,59±0,1 | 2,2±0,1 | 1,65±0,1 |
| IgG (g/l) | 12,0±0,1 | 16,2±0,3 | 11,4±0,4 | 15,0±0,2 | 12,0±0,2 |

Analiza imunităţii umorale a constatat o majorare moderată a imunoglobulinelor G şi M până la 15,0 ± 0,2 g/L şi 2,2 + 0,1 g/L, comparativ cu 12,0 ± 0,1 g/L şi 1,45 ± 0,05 g/L la cei sănătoşi ($p<0,001$). Suplimentarea imuheptinului la tratamentul standard a contribuit la diminuarea conţinutului IgG de la 16,2±0,3 până la 11,4±0,4 g/l (cu 30%), IgM – de la 2,12±0,2 până la 1,59±0,1 g/l (cu 25%), iar a imupurinului – IgG de la 15,0±0,2 până la 12,0±0,2 g/l (cu 20%), IgM – de la 2,2+0,1 până la ,65±0,1 g/l (cu 25%) în comparaţie cu lotul martor – cu 9,0% şi cu 8,0% respectiv.

Astfel, tratamentul complex al pacienţilor cu hepatite cronice de diferită etiologie cu entoheptin, imuheptin şi imupurin s-a soldat cu ameliorarea mai eficientă a tabloului clinic, sindromului de citoliză şi colestază, perturbărilor metabolismului lipidic, imunităţii celulare şi umorale.

Pe baza rezultatelor obţinute putem concluziona:

1. Tratamentul complex cu preparatele entomologice al pacienţilor cu hepatite cronice de diferită geneză a contribuit la o ameliorare mai rapidă a sindromului asteno-vegetativ, algic şi dispeptic în comparaţie cu tratamentul standard.
2. Imuheptinul, entoheptinul şi imupurinul au determinat o diminuare semnificativă a activităţii transaminazelor, dar fără normalizare deplină, fapt ce ne sugerează necesitatea continuării tratamentului mai mult de 3 luni.
3. La bolnavii cu hepatite cronice s-a constatat un sindrom moderat de colestază care s-a atenuat esenţial în cazul tratamentului complex cu entoheptin, imuheptin şi imupurin.
4. Preparatele entomologice, în comparaţie cu tratamentul standard, au manifestat o capacitate mai mare de diminuare a proceselor de peroxidare a lipidelor (micşorarea DAM).
5. Preparatele entomologice au contribuit la modularea parametrilor sistemului imun, îndeosebi prin micşorarea complexelor imunocirculante şi imunoglobulinei G şi M cu restabilirea imunităţii celulare T.

Farmacoterapia hepatitelor de diferită etiologie, inclusiv şi celor virale, se bazează pe tratamentul patogenetic şi etiotrop. Prin cel etiotrop se subînţelege terapia antivirală, care se efectuează preponderent cu preparatele interferonilor sau asocierea lor cu analogii nucleozidelor. În ultimii ani o atenţie importantă se acordă studiului eficacităţii inductorilor interferonilor (produse de provenienţă naturală sau sintetică) ca preparate antivirale şi compuşilor cu acţiune imunomodulatoare. Ultimii sunt capabili prin influenţa asupra sistemului interferonilor, **kilerilor** naturali, fagocitozei să diminuieze încărcătura virală, să inhibe replicarea virală sau să lezeze hepatocitele infectate cu virisurile hepatice. În acest context s-au studiat preparatele de origine entomologică sau analogii lor sintetici (aloferonii). Astfel, utilizarea allochinei-alfa în tratamentul hepatitelor virale B şi C a contribuit la o evoluţie mai benefică a tabloului clinic, parametrilor biochimici şi eliminarea din sânge a HbsAg în comparaţie cu lotul de control (Черныш С.И, 2004, Ершов Ф.И. и др., 2008). Preparatele entomologice utilizate în studiu dat, de asemenea, au ameliorat mai efectiv simptomele clinice, au diminuat activitatea transaminazelor şi nivelul bilirubinei. Recent s-a constatat că imupurinul, produs entomologic obţinut din pupele de Lepidoptere, creşte rezistenţa nespecifică, intensifică fagocitoza şi majorează procentul limfocitelor-T citotoxice, date care ne sugerează despre capacitatea preparatului de a produce modularea sistemului imun pentru neutralizarea hepatocitelor infectate sau afectate (I.Pogonca, 2009). Proprietăţile imunotrope ale imupurinului, de rând cu efectele benefice în afecţiunile hepatice toxice, sunt în mare parte datorate prezenţei în componenţa preparatelor entomologice a peptidelor, polizaharidelor şi complexelor lipoproteice.

Hepatitele cronice virale sau toxice se caracterizează în majoritatea cazurilor printr-un tablou clinic sărac sau chiar asimptomatic (Lupaşco Iu şi coaut., 2005, Dumbrava V.şi coaut., 2005, 2010, Tofan E.şi coaut., 2008, Pântea V. 2009, 2011, Pântea V.şi coaut., 2010, Ginda S.şi coaut., 2010 ). Includerea în tratamentul complex al hepatitelor cronice de diferită geneză a preparatelor din grupa hepatoprotectoarelor, imunomodulatoarelor, interferonogenilor şi preparatelor cu acţiune metabolică a contribuit la obţinerea unui efect benefic de diferit grad.

La bolnavii cu hepatită virală cronică B(HVBC) şi hepatită virală cronică C (HVCC) la tratamentul cu produsul entomologic hepatito-liz (conţine un complex de aminoacizi) timp de 6 luni s-a constatat ameliorarea tabloului clinic, micşorarea dimensiunilor ficatului şi splinei, normalizarea activităţii AlAT, probei timol cu o diminuare a pacienţilor detectaţi cu ADN-VHB (cu 45%) şi ADN-VHC (cu 60%) (Pântea V.şi coaut., 2004, Pântea V., 2011).

Tratamentul pacienţilor cu hepatită virală cronică B cu imupurin şi imuheptin a contribuit la o ameliorare cu 6-9 zile mai rapidă, faţă de lotul martor, a sindromului asteno-vegetativ, algic şi dispeptic cu instalarea unei stări subiective bună şi satisfăcătoare la 90-94% din bolnavi. În aceste condiţii s-a constatat o diminuare, fără normalizare, a activităţii transaminazelor, nivelului bilirubinei şi probei timol (Tofan E. şi coaut., 2008).

La bolnavii cu hepatită virală cronică C s-a constatat ameliorarea tabloului clinic, micşorarea dimensiunilor ficatului şi splinei la utilizarea preparatului imunomax (conţine acid glutamic, leucină, asparagină, lizină, prolină, alanină, izoleucină, valină, cisteină, treonină) în tratamentul complex. Concomitent, s-a determinat o diminuare a activităţii AlAT, a nivelului bilirubinei totale şi probei timol (Pântea V.şi coaut., 2010). Autorii au remarcat că preparatul posedă acţiune hepatoprotectoare.

Trratamentul cu hepaphyl, preparat cu acţiune hepatoprotectoare, imunomodulatoare şi antivirală, al pacienţilor cu HVBC a contribuit la ameliorarea tabloului clinic (sindromului asteno-vegetativ, algic, dispeptic), indicilor biochimici (AlAT, AsAT, bilirubinei totale, FAL, GGTP) faţă de lotul de bază (vitaminele B, C, riboxină, acid lipoic). Concomitent s-au depistat micşorarea nivelului CIC şi DAM (Lupaşco Iu.şi coaut., 2005). Autorii au concluzionat despre capacitatea preparatului de a manifesta efect hepatoprotector (reducerea sindromului de citoliză şi colestază) şi de inhibare a proceselor POL.

O particularitate importantă a hepatitelor virale, îndeosebi a HVC, constă în capacitatea persistării durabile în organism, cauzând un potențial major de cronicizare. Unul din cele mai importante mecanisme de persistare a virusului se reduce la formarea tulpinelor mutante, care nu sunt recunoscute de sistemul imun. Particularitățile persistării pariteculelor virale în ser cauzează acumularea produselor POL cu formarea speciilor reactive ale oxigenului pe fundalul diminuării activității sistemului antioxidant. Hepatitele virale cronice determină activarea POL și dezechilibrul unor sisteme antioxidante non-enzimatice (Гейвандова Н.И.и др., 2008, Плахтий Л.Я. и др., 2010)..

La bolnavii cu HVCC s-a constatat majorarea nivelului DAM la apogeul manifestărilor clinice (faza de exacerbare) cu o dinamică pozitivă în perioada de regresie și, îndeosebi, în cea de reconvalescență precoce. Intensitatea POL corela cu gradul de activitate al HVCC, urmând să se normalizeze la pacienții cu forma ușoară, iar la cei cu activitate moderată și gravă să se micșoreze. Concomitent, la pacienții cu HVCC s-a constatat o diminuare a activității catalazei la apogeul manifestărilor clinice cu o corelație direct proporțională cu gradul de activitate al maladiei. Creșterea activității enzimei avea loc odată cu regresia simptomelor, urmând să se normalizeze în perioada de reconvalescență precoce (Плахтий Л.Я. и др., 2010)

Virusul hepatic C produce o afectare imunodepresivă a ficatului, exercită un efect hepatotoxic direct (steatoza virus-indusă), precum și induce un stres oxidativ cu intensificarea POL. Acțiunea directă și indirectă a virusului hepatic C asupra membranelor citoplasmatice și mitocondriale ale hepatocitelor este relevată prin dereglările metabolismului intracelular, precum și a structurilor lor cu formarea defectelor ce pot duce la moartea celulelor. Fosfolipidele constituie matricea membranelor biologice, îndeosebi în hepatocite (circa 65%) și au multiple funcții (structurală, stimularea activității sistemelor enzimatice, participarea la procesele de transport, multiplicare și diferențiere), iar integritatea lor determină funcționalitatea normală a membranelor celulare și organitelor intracelulare (Плахтий Л.Я. и др., 2010).

Modificarea vâscozității stratului bilipidic este o etapă inițială în mecanismele necrozei celulelor și este determinată, de regulă, de activarea POL, care afectează în primul rând fosfolipidele ce conțin acizi grași polinesaturați. În patologia hepatică se constată o micșorare a conținutului fosfolipidelor care ușor se oxidează, datorită epuizării lor în reacțiile POL și hidrolizei de fosfolipaze. Destrucția acizilor grași polinesaturați contribuie la acumularea produselor toxice și metaboliților activi – DAM și 4-hidroxienoldialdehidei. Proceselor POL în organism se opune sistemul antioxidant ce constă din GSH, enzimele antioxidante (SOD, CAT, GPx, GR), proteinele cuplate cu metalele (feritina, ceruloplasmina), vitamina C, betacarotinele etc. În HVC un rol important, în inducerea stresului oxidativ, îi revine producției marcate de TNFalfa (Плахтий Л.Я. и др., 2010).

Datele literaturii referitor la starea sistemului antioxidant la bolnavii cu HVCC sunt contradictorii. S-a constatat micșorarea SOD și GSH în ser pe fundalul creșterii DAM. Totodată, s-au relevat indici normali ai activității antioxidante totale (AAT) în ser, posibil, prin majorarea adaptivă a altor antioxidanți. În unele cazuri s-a determinat că activitatea SOD în mononucleare era crescută, iar cea a CAT, GPx și GR normală la o capacitate mai mare a limfocitelor de a sintetiza GSH. Concomitent, s-a depistat că expresia ARNm al SOD în ficat nu se majora, dar era semnificativ crescută în mononuclearele din sângele periferic (Плахтий Л.Я. и др., 2010). Aceste date au permis autorilor de a concluziona că ficatul nu este protejat de stresul oxidativ, iar pentru anihilarea acestuia are loc creșterea activității antioxidanților din sângele periferic.

Plathii L.Ia. și coaut. (2010) au determinat la pacienții cu HVCC diminuarea conținutului fosfolipidelor în ser pe fundalul majorării DAM și AAT. Reducerea nivelului fosfolipidelor în ser indirect reflectă despre micșorarea posibilităților de restabilire a defectelor membranelor hepatocitelor. Concomitent, nu s-a constatat dependența între nivelul fosfolipidelor și activitatea AlAT, dar s-a stabilit o corelație inversă între conținutul fosfolipidelor în ser și indicele activității histologice (IAH după Knoedel), ce relevă despre prezența procesului inflamator. Majorarea AAT în ser pe fundalul creșterii DAM se consideră ca un mecanism adaptiv. În aceste condiții, activarea POL preceda intensificării activității AlAT. Autorii au stabilit o corelație pozitivă între POL și IAH, AAT și IAH, fapr ce le-a permis de a considera parametrii respectivi ca markeri neinvazivi ai activității procesului patologic în ficat.

Tratamentul antiviral a contribuit la micșorarea nivelului DAM, normalizarea AAT și majorarea fosfolipidelor (fără normalizarea lor). Aceasta denotă că terapia antivirală contribuie la epuizarea fosfolipidelor, ce teoretic argumentează ipoteza includerii fosfolipidelor esențiale în calitate de preparate adjuvante la pacienții cu HVCC (Плахтий Л.Я. и др., 2010).

Tofan E. și coaut. (2008) au stabilit la pacienții cu HVBC instalarea unui stres oxidativ, relevat prin activarea POL (majorarea nivelului DC și DAM) și diminuarea activității sistemului antioxidant (reducerea SOD, CAT, GPx). Includerea imupurinului și imuheptinului în tratamentul complex al acestor pacienți a contribuit, în comparație cu terapia standard, la diminuarea activității POL și intensificarea sistemului antioxidant.

Actualmente este indiscutabil rolul sistemului imun în formarea, caracterul evoluției și pronosticul proceselor patologice în ficat de diferită geneză și, în primul rând, de etiologie virală. Din aceste considerente, investigațiile imunologice, din ce în ce mai frecvent, sunt un compartiment omniprezent în studiile experimentale și clinice.

S-a determinat cu certitudine că răspunsul imun în infecțiile virale depinde de participarea limfocitelor-T, îndeosebi a limfocitelor-T-helperi-1 (Th1) și T-helperi-2 (Th2) și, în primul rând, de echilibrul acestora. Deviațiile Th1/Th2 joacă un rol importnat în imunopatogeneza hepatitelor virale și, îndeosebi, în procesele de cronicizare a infecției (Скляр Л.Ф. и др., 2005, Малый В.П., Гололобова О.В., 2007, Редькин Ю.В., Дронь Е.В., 2007. Гончикова С.Ч.и др., 2010, Кельцев В.А., Чурбакова О.В., 2011).

Co-raportul Th1/Th2 determină în mare parte tipul răspunsului imun – T-celular (Th1) sau umoral (Th2). Predominarea este cauzată de citochinele produse şi rolul lor în stimularea unui sau altui răspuns imun. Astfel, se estimează că activitatea limfocitelor-Th1 este responsabilă de producerea interferonului gama (INF-γ), interleuchinei-2 (IL-2), factorului de necroză tumorală alfa şi beta (TNFα, β), care stimulează funcţia limfocitelor-T, kilerilor naturali (NK) şi macrofagelor. Aceste evenimente contribuie la dezvoltarea răspunsului T-celular, ce are rol primar în protecţia antivirală a organismului. Limfocitele-Th2 sunt responsabile de secreţia IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-9, IL-10, IL-13, IL-18, ce stimulează preponderent veriga umorală a imunităţii. S-a constatat că limfocitele Th2, prin eliberarea citochinelor proinflamatoare, blochează proliferarea şi activarea limfocitelor-Th1 cu inhibarea reacţiilor citotoxice şi a eradicării agentului patogen (Скляр Л.Ф. и др., 2005, Малый В.П., Гололобова О.В., 2007, Редькин Ю.В., Дронь Е.В., 2007. Гончикова С.Ч.и др., 2010, Кельцев В.А., Чурбакова О.В., 2011).

La examinarea iniţială a pacienţilor cu hepatite virale cronice B (HVBC) şi C (HVCC) s-a constatat o micşorare a procentului limfocitelor-T şi -B, T-helperilor inductori şi limfocitelor-T citotoxice (Bacinschi N.şi coaut.2010) şi o majorare a complexelor imunocirculante (CIC), imunoglobulinelor M, G şi A (IgV, IgG, IgA) (Bacinschi N.şi coaut., 2010, 2011). Rezultastele relatate sunt în corcondanţă cu datele din literatură (Ghinda S. şi coaut.2010, Pântea V., 2009, 2011, Малый В.П., Гололобова О.В., 2007, Редькин Ю.В., Дронь Е.В., 2007, Гончикова С.Ч.и др., 2010, Кельцев В.А., Чурбакова О.В., 2011).

Analiza acestor date ne relevă despre predominarea relativă la pacienţii cu hepatite virale cronice a limfocitelor-Th2 faţă de -Th1. Concmitent, la bolnavii cu vindecarea după hepatitele virale acute se detectă o stare inversă. După cum s-a menţionat, activarea limfocitelor-Th1 sau -Th2 determină secreţia anumitor citochine cu proprietăţi proinflamatoare (IL-1beta, IL-6, IL-8, IL-18, TNFα etc.) şi/sau antiinflamatoare (IL-4, IL-10, INF-γ). Interleuchina 1 beta reprezintă un mediator endogen nespecific şi este unul din primii care se include în reacţia protectoare de răspuns la infecţia virală. Această citochină activează limfocitele-T şi -B, amplifică efectele lor citotoxice, iar împreună cu alte citochine contribuie la proliferarea celulelor Kupffer (CK), iniţiază sinteza IL-6, TNF alfa etc.. Limfocitele, fibroblastele, CK, celulele endoteliale ale ducturilor biliare intrahepatice şi, în măsură mai mică, hepatocitele produc IL-6, care stimulează procesele inflamazoare, imune, metabolice şi de proliferare a celulelor. Celulele Kupffer sintetizează IL-18, ce induce secreţia INF-γ, iar concentraţia ei în ser corelează cu nivelul viremiei şi activitatea AlAT. O citochină proinflamatoare este TNF alfa, creşterea nivelului căreia în hepatitele virale acute corelează cu gravitatea procesului, hiperfermentemia şi modificările patomorfologice, iar în cele cronice – reflectă activarea procesului cronic şi progresarea maladiei. Astfel, TNF alfa reprezintă un marcher important al activității hepatitelor virale acute şi acutizarea celor cronice, precum şi un indicator al eficacității tratamentului etiotrop şi patogenetic.

Datele literaturii, referitoare la nivelul limfocitelor-T (CD3+), T-helperilor (CD4+) şi T-citotoxice (CD8+) sunt contradictorii, însă majoritatea autori remarcă despre reducerea parametrilor respectivi ai verigii T-celulare la pacienții cu HVC. Acțiunea lezantă a virusurilor hepatotrope asupra leucocitelor sau predecesorilor lor medulari, precum şi acțiunea sistemică a citochinelor proinflamatoare. Mecanismele, prin care virusurile hepatice influențează inhibitor asupra verigilor răspunsului imun, se reduc la: iepuizarea activității funcționale a limfocitelor virusospecifice ca rezultat al persistării concentrațiilor mari de antigeni virali; majorarea activității celulelor-T reglatoare; capacitatea virusurilor de a exista într-o formă de matrice intracelulară stabilă (VHB) şi/sau de a produce mutații (VHC), ce îi permit de a evita controlul imun; acțiunea directă a proteinelor VHC asupra celulelor-T. Afectarea celulelor imunocompetente, responsabile de eliminarea virusurilor, se realizează prin intensificarea apoptozei, precum şi prin dereglarea mecanismelor compensatorii de reglare ale imunității (Гончикова С.Ч.и др., 2010).

Mecanismele patogenetice ale procesului infecțios în HVCC sunt variate. Un rol important le revin dereglărilor imunopatologice, care sunt în corelație cu procele inflamatoare şi POL. Astfel, la pacienții cu HVCC s-a constatat o deficiență a imunității celulare (micşorarea CD3+, CD4+, CD8+, CD16+ şi indicelui de imunoreglare) şi o activarea a celei umorale (majorarea limfocitelor-B (CD22+), IgM, IgG, IgA şi CIC). Concomitent, s-a determinat o corelare negativă între nivelul conjugațiilor dienici (CD) şi conținutul relativ (%) al limfocitelor-T (CD3+), T-helperilor (CD4+), T-supresorilor (CD8+) şi NK-celulelor (CD16+). În aceste condiții s-a relevat o corelație pozitivă între CD şi IgG şi CIC. Astfel, s-a stabilit o corelare inversă între nivelul CD şi parametrii imunității celulare şi o corelare pozitivă cu cea umorală (Николенко О.Ю. и др., 2008).

Patogeneza leziunilor hepatice, cauzată de dezechilibrul între citochinele pro- şi antiinflamatoare, perturbările imunologice, determină elucidarea unor posibilități noi de corecție a proceselor patologice prin preparate policomponente cu influență asupra diferitor verigi patogenetice ale hepatitelor virale cronice.

Studiile clinice în vederea stabiirii eficacității entoheptinului, imuheptinului şi imupurinului în tratamentul complex al pacienților cu hepatite virale cronice au fost precedate de cercetările experimentale, care au demonstrat că preparatele entomologice manifestă efect hepatoprotector, antioxidant, antiinflamator şi imunomodulator (Pogonca I şi coaut., 2005, Ghicavîi V şi coaut., 2006, 2010, Bacinschi N., 2010). Investigațiile clinice ne-au relevat că tratamentul timp de 3 luni cu imupurin şi imuheptin a contribuit la diminuarea CIC, IgM, IgG, IgA şi la o majorare a limfocitelor-T şi subpopulațiilor lor şi limfocitelor-B (Bacinschi N. şi coaut., 2010, 2011). Rezultatele obținute ne denotă despre o influență preponderentă a preparatelor cercetate asupra limfocitelor-T cu restabilirea echilibrului între imunitatea celulară (deprimată) şi umorală (activată) la bolnavii cu hepatite virale cronice. Aceste date sunt susţinute şi de studiile ce ne-au demonstrat capacitatea preparatelor entomologice, îndeosebi a imupurinului şi imuheptinului, de a stimula rezistenţa nespecifică, de a intensifica capacitatea fagocitară a neutrofilelor şi macrofagelor, de a creşte procentul limfocitelor-T totale (CD3+) şi subpopulaţiilor limfocitare: T- helperii (CD4+), T - supresorii cu activitate citotoxică (CD8+) şi cu o diminuare nesemnificativă a celulelor NK (CD16+) şi limfocitelor B ( CD 20+ şi HLA- DR) (Pogonea I., 2009, Bacinschi N., 2010).

Studiile clinice au demonstrat că tratamentul pacienţilor cu HVBC timp de 3 luni cu imuheptin şi imupurin a contribuit practic la normalizarea parametrilor imunologici. Astfel, s-a constatat majorarea procentului limfocitelor-T, T-helperi, T-supresori, limfocitelor-B cu micşorarea nivelului IgM, IgG şi IgA. Rezultatele denotă despre restabilirea echilibrului între imunitatea celulară şi umorală. (Tofan E. şi coaut., 2008).

La bolnavii cu HVBC şi HVCC iniţial s-au depistat dereglări ale statutului imun (leucopenie, deficienţa imunităţii celulare-T, disfuncţie de imunoreglare cu referire la stările de hiposupresie), care au avut o dinamică pozitivă la tratamentul pacienţilor cu produsul entomologic hepatito-liz (conţine un complex de aminoacizi) timp de 6 luni. Concomitent s-a constatat ameliorarea tabloului clinic, micşorarea dimensiunilor ficatului şi splinei, normalizarea activităţii AlAT, probei timol cu o diminuare a pacienţilor detectaţi cu ADN-VHB (cu 45%) şi ADN-VHC (cu 60%). La bolnavii cu HVCC s-a detectat o corelare între negativarea ARN-HVC şi indicele de imunoreglare cu o stare accentuată de hiposupresie, ce denotă despre intensificarea răspunsului imun, prin care s-ar explica efectul antiviral (Pântea V.şi coaut., 2004, Pântea V., 2011).

Utilizarea imuheptinului în tratamentul HVBC şi HVCC timp de 3 luni a determinat corecţia dereglărilor statutului imun (leucopenie, deficienţă celulară-T, disfuncţii de imunoreglare, hiposupresie) relevat printr-un efect de imunoreglare concretizat prin creşterea numărului de leucocite, normalizarea celui de limfocite (majorarea în caz de limfopenie şi reducerea în caz de limfocitoză). La finele curei de tratament, de asemenea s-a depistat creşterea limfocitelor-T, indicelui de imunoreglare cu micşorarea până la normă a concentraţiei IgG şi CIC. Preparatul entomologic a contribuit la dispariţia simptomelor clinice deja după prima lună, urmând ca la finele curei să se micşoreze dimensiunile ficatului şi splinei cu normalizarea lor la 70-75% pacienţi. Concomitent s-a depistat normalizarea activităţii AlAT, nivelului bilirubinei totale şi probei timol (Pântea V., 2006, 2011). Autorul a concluzionat că imuheptinul manifestă proprietăţi imunomodulatoare, hepatoprotectoare şi antiproliferative.

Tratamentul complex cu imupurin al pacienţilor cu HVCC timp de 3 luni (fără preparate antivirale) a determinat o corecţie a dereglărilor statutului imun prin normalizarea numărului leucocitelor şi limfocitelor, a indicelui de imunoreglare (indiferent de tipul dereglării) şi micşorarea conţinutului IgG şi CIC. Preparatul entomologic a contribuit, de asemenea, la dispariţia simptomelor clinice, micşorarea şi/sau normalizarea dimensiunilor ficatului şi splinei, diminuarea (fără normalizarea) activităţii AlAT şi probei timol. S-a rezumat că imupurinul posedă proprietăţi imunomodulatoare (Pântea V., 2006, 2011).

La bolnavii cu HVBC s-a constatat o micşorare a nivelului limfocitelor-T, T-helperilor şi indicelui de imunoreglare (Th/Ts) cu o majorare celui a limfocitelor-B. Utilizarea în tratamentul complex a preparatului BioR (conţine aminoacizi, oligopeptide, microelemente) a contribuit peste 15 şi 30 zile la normalizarea conţinutului limfocitelor-B şi -T, T-helperi cu o tendinţă de majorare a indicelui de imunoreglare. Datele obţinute au permis de a recomanda preparatul studiat în procesele de imunoreabilitare al pacienţilor cu HVBC (Ginda S. şi coaut., 2010, Gribineţ L., 2010).

Tratamentul complex al bolnavilor cu hepatita virală B cu galavit (imunomodulator) şi panavir (antiviral), ce nu au răspuns la tratament antiviral sau acesta a fost contraindicat, a contribuit la corecţia statutului imun şi nivelului citochinelor (Редькин Ю.В., Дронь Е.В., 2007). Autorii au constatat la aceştea corecţia imunităţii celulare-T (majorarea CD4+, indicelui imunoreglator, micşorarea CD8+) şi umorale (tendinţa de reducere a limfocitelor-B cu diminuarea IgM), ce determină modificarea raportului Th1/Th2 în favoarea Th1. Concomitent, s-a determinat o majorare a conţinutului INFγ (deplasarea raportului Th1/Th2 în favoarea Th1) şi INFά (denotă despre inhibarea replicării virale cu creşterea sensibilităţii la acţiunea citotoxică a limfocitelor-T, precum şi despre activarea NK-celulelor cu majorarea sintezei INFγ) pe fundalul diminuării nivelului TNF alfa şi IL-4 (reflectă lichidarea insuficienţei imune), creşterea activităţii fagocitare a neutrofilelor şi a răspunsului limfocitelor la stimulare. Corecţia dereglărilor statutului imun şi citochinic s-a soldat cu diminuarea şi/sau normalizarea activităţii AlAT şi AsAT, cu obţinerea unui răspuns antiviral la circa 60% din pacienţi (Редькин Ю.В., Дронь Е.В., 2007).

La majoritatea pacienţilor cu HVCC iniţial s-au determinat disfuncţii ale imunităţii celulare-T (leucopenie, limfocitopenie, micşorarea limfocitelor TFR şi TFS) cu activarea celei umorale (creşterea IgG, CIC). Tratamentul cu imunomax (conţine un complex de aminoacizi) a contribuit la corecţia dereglărilor imune, îndeosebi a limfopeniei, cu majorarea limfocitelor T totale, limfocitelor TFR şi indicelui de imunoreglare. (Pântea V.şi coaut., 2010). Autorii au concluzionat că preparatul posedă acţiune imunomodulatoare prin activarea imunităţii celulare-T şi diminuarea celei umorale.

La pacienţii cu HVCC, în comparaţie cu persoanele sănătoase, s-a determinat o tendinţă de creşterea a limfocitelor-B cu o majorare semnificativă a conţinutului IgM, IgG, IgA şi CIC pe fundalul unei micşorări nesemnificative a limfocitelor-T şi majorare a limfocitelor-T-active cu o diminuare a indicelui de imunoreglare. Tratamentul cu polioxidoniu a contribuit la normalizarea parametrilor imunologici cu înlăturarea deficienţei celulare secundare (Barba D.şi coaut., 2005).

Examinarea bolnavilor cu HVCC a detectat un dezechilibru imunologic relevat prin majorarea IgM, IgG, IgA şi CIC pe fundalul inei deficienţe a imunităţii celulare. Aceste dereglări corelau cu gradul de activitate al transaminazelor, FAl, GGTP şi nivelului bilirubinei totale (Dumbrava V., Berliba E., 2005, Romanciuc I., 2005).

Un şir de autori remarcă că la pacienţii cu hepatite virale cronice, îndeosebi HVCC, chiar şi în afara replicării virale, în ficat sunt detectate modificări caracteristice steatohepatitei non-alcoolice, printre care şi ale sistemului imun (statutului citochinic şi interferonilor). Astfel, în steatohepatita non-alcoolică s-a determinat o majorare a nivelului TNF alfa, IL-6 şi IL-4, asociate cu inducerea stresului oxidativ - intensificarea POL (creşterea nivelului dialdehidei malonice) şi diminuarea activităţii sistemului antioxidant (reducerea activităţii antioxidante totale şi a catalazei) şi dezvoltarea sindromului de citoliză (majorarea activităţii AsAT, AlAT) şi colestază (creşterea nivelului bilirubinei totale). Utilizarea imuheptinului a contribuit la reducerea semnificativă a conţinutului citochinelor proinflamatoare (TNF alfa, IL-6) şi antiinflamatoare (IL-4) asociată cu normalizarea indicilor biochimici şi stresului oxidativ (David L., 2011).

Analiza datelor proprii şi celor din literatură ne permite să concluzionăm despre importanţa funcţionalităţii sistemului imun în contracararea infecţiilor virale acute cu virusurile hepatice pentru eliminarea virusurilor şi preîntâmpinarea cronicizării procesului. Deviaţiile imune, prezente şi/sau cele induse de agentul infecţios, îndeosebi deficienţa imunităţii celulare, sunt responsabile de trecerea hepatitelor virale acute în formele cronice, precum şi de acutizarea acestora cu dezvoltarea fibrozei, cirozei hepatice şi carcinomului hepatic. Studiile experimentale şi clinice ne-au demonstrat, că preparatele entomologice, îndeosebi imupurin şi imuheptin, manifestă proprietăţi imunomodulatoare prin influenţarea asupra limfocitelor-T şi subpopulaţiilor lor cu corecţia deficienţelor imunităţii celulare şi suprimarea reactivităţii majorate a celei umorale. Cele expuse ne permit a considera preparatele entomologice ca medicamente cu influenţă asupra verigilor patogenetice în hepatitele virale cronice, inclusiv şi în cazul refracterităţii la tratamentul antiviral specific sau prezenţei contraindicaţiilor la acesta.

## BIBLIOGRAFIA

1. Bacinschi N.. Preparate entomologice cu proprietăţi imunotrope. Curierul medical. 2010; 6 (318):3-8
2. Bacinschi N., Ghicavîi V., Butorov V., Pogonea I. Eficacitatea preparatelor entomologice în tratamentul complex al hepatitelor de diferită etiologie. Curierul medical 2010;3 (315):81-84.
3. Bacinschi N., Ghcavîi V., Dumbrava V., Pogonea I.. Preparatele entomologice în tratamentul complex al hepatitei virale cronice. Curierul medical 2011;6 (315):6-10.
4. Barba D., Anestiadi Z., Dumbrava V., Andrieş L. Statusul imun al pacienţilor cu urticarie cronică recidivantă asociată cu hepatita cronică şi principii de imunoreabilitare. Anale ştiinţifice ale USMF „Nicolae Testemiţanu". Ediţia VI..Volumul 3A Probleme actuale în medicina internă. Chişinău 2005; 361-364

5. Cernysh S.I., Kim S.I., Bekker G., Pleskach V.A., Filatova N.A., Aniin V.B., Platonov V.G., Bulet P.: Antiviral and antitumor peptides from insects. PNAS, 2002, vol.99, N.20, 12628 – 12632.
6. Cernysh S.I., Filatova N.A., Cernysh N.S.: Cytotoxic activity of blow fly Calliphora vicina hemocytes. Journal of Insect Physiology, 2004, v.50, 777-781.
7. Ciuhrii M., Vernescu S.: Entomologia la finele secolului XX. Lucrările celui de-al II-lea Congres „Dezvoltarea în pragul milemiului III", Bucureşti, 1999; 560-567.
8. Ciuhrii M.:Terapii complementare noi bazate pe subsanţe biologic active extrase din insecte. Lucrările simpozionului „Priorităţi în dezvoltarea biotehnologiei româneşti", Târgovişte, 12-13 decembrie 2002, 96-103.
9. David L. Corecţia farmacologică a dereglărilor metabolice la bolnavii cu steatohepatită non-alcoolică. Autoreferatul tezei de doctor în medicină. Chişinău. 2011;30p.
10. Dumbrava V-T., Lupaşco Iu., Mazur M., Ţurcanu A. Ficatul şi medicamentele (îndrumar didactic). Chişinău, 2004, 91p.
11. Dumbrava V-T. şi coaut. Bazele hepatologiei. Chişinău. 2010, v.II. 416p.
12. Dumbrava V., Berliba E. Modificările imunologice la pacienţii cu hepatitî cronică de geneză alcoolică şi hepatita cronică virală C. Anale ştiinţifice ale USMF „Nicolae Testemiţanu". Ediţia VI..Volumul 3A Probleme actuale în medicina internă. Chişinău 2005; 356-360
13. Ghicavîi V., Bacinschi N.. Preparatele entomologice – o nouă direcţie de cercetare şi elaborare a medicamentelor. Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţe medicale. Chişinău. 2006; 3 (7): 221-6.
14. Ghicavîi V. et al. The study in vitro of the antiviral and antibacterial properties of entomologic substances. First International Conference „Collateral Effects of Antiinfective Drugs". Bucharest, Romania. October 04-06, 2006,44-45.
15. Ghicavîi V. şi coaut.. Evoluţia maladiilor imunodeficiente pe fondal de tratament cu un nou preparat entomologic – imupurin. Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţe medicale. Chişinău, 1(24)2010, p. 82-85.
16. Ghinda S. şi coaut. Acţiunea preparatului Bio-R în eficacitatea imunoreabilitării pacienţilor cu hepatită cronică virală B. Curierul medical. 2010;3(315):178-180.
17. Gribineţ L. Acţiunea BioR-ului în manifestările sindromului asteno-vegetativ şi indicilor imunităţii celulare, la etapale imunoreabilitării bolnavilor cu hepatită cronică virală „B". Anale ştiinţifice ale USMF „Nicolae Testemiţanu". Ediţia XI.. Volumul 3A Probleme actuale în medicina internă. Chişinău 2010; 175-177
18. Grigorescu M., Tratat de hepatologie, . Bucureşti, 2004.
19. Lupaşco Iu., Anestiadi Z., Berliba E. Hepaphyl în tratamentul hepatitei cronice de etiologie virală B. Anale ştiinţifice ale USMF „Nicolae Testemiţanu". Ediţia VI..Volumul 3A Probleme actuale în medicina internă. Chişinău 2005; 375-379.
20. Otvos L.JR Antibacterial peptides isolated from insects. J. Pept Sci. 2000 Oct;6(10):497-511.
21. Pogonea I., Bacinschi N., Spinei R., Ghicavăi V. Implicaţii imunologice în patogeneza afecţiunii hepatice toxice experimentale provocată de paracetamol. Anale ştiinţifice ale USMF „Nicolae Testemiţanu". Ediţia VI. Volumul I. Probleme medico – biologice şi farmaceutice. Chişinău 2005. 374-7.
22. Pogonea I. Inofensivitatea şi aspectele farmacologice ale preparatului entomologic imupurin. Teza doctor în medicină. Chişinău. 2009. 126p.

23. Prisacari V., Paraschiv A., Colţa V., Staicova O. Particularităţile epidemiologice şi factorii de risc în hepatite virale cronice şi ciroze hepatice. Analele ştiinţifice ale USMF „Nicolae Testemiţanu" v.II: Probleme actuale de sănătate publică şi management ediţia XI. Chişinău. 2010:16-27.
24. Pântea V., Ghicavîi V., Cuşnir Gh. Tratamentul hepatitei cronice virale B cu Hepatito-liz 1 şi Hepatito-liz 2. Analele ştiinţifice ale USMF „Nicolae Testemiţanu" ediţia V. Chişinău. 2004; v.II:774-7.
25. Pântea V. Tratamentul hepatitelor cronice virale C şi B cu imuheptină. Analele ştiinţifice ale USMF „Nicolae Testemiţanu" ediţia VII. Chişinău. 2006:336-340.
26. Pântea V. Tratament cu imupurină în hepatita cronică virală C. Conferinţa a VI-a a infecţioniştilor din Republica Moldova. Actualităţi în patologia infecţioasă. Chişinău. 2006.57-59.
27. Pântea V. Hepatitele virale acute şi cronice. Actualităţi. Chişinău. 2009. 224p.
28. Pântea V. Hepatitele virale C, B şi D acute şi cronice. Chişinău 2011;104p.
29. Pântea V., Cebotarescu V., Smeşnoi V. Tratamentul hepatitei virale cronice cu imunomax. Anale ştiinţifice ale USMF „Nicolae Testemiţanu". Ediţia XI..Volumul 3A Probleme actuale în medicina internă. Chişinău 2010; 397-400.
30. Romanciuc I. Statutul afectiv al pacienţilor cu hepatite cronice virale cu dezechilibru imunologic. Anale ştiinţifice ale USMF „Nicolae Testemiţanu". Ediţia VI.. Volumul 3A Probleme actuale în medicina internă. Chişinău 2005; 365-370
31. Ryu M.J. et al. Activation of NF-kappaB by alloferon through down-regulation of antioxidant proteins and IkappaBalpha . Mol.Cell,Biochem. 2008, jun; 313 (1-2): 91-102.
32. Tofan E., Ţîbîrneac M., Nichita S şi coaut. Optimizarea tratamentului hepatitei cronice virale B. Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţe medicale. Chişinău. 2008; 2: 206-210.
33. Бакулин И.Г., Сандлер Ю.Г. Возможности применения гепатопротекторов в практике врача-терапевта. //Consilium Medicum Ucraina 2010, nr.2, c.13-18.//.
34. Венгеровский А.И. Фармакологические подходы к регуляции функций печени. //Бюллетень сибирской медицины. 2002, nr.1, c.25-29.
35. Гейвандова Н.И., Ягода А.В., Гудзовская Д.А., Косторная И.В. Сывороточные фосфолипиды, показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты как дополнительные неинвазивные маркеры активности хронического вирусного гепатита С. РЖГГК. 2008; 18(6):38.42.
36. Гончикова С.Ч., Убеева И.П., Николаев С.М. Иммунологические аспекты патогенеза вирусных гепатитов. Бюлетень ВСНЦ СО РАМН, 2010;2(22):17-22.
37. Ершов Ф.И. и др. Применение аллокина-альфа в терапии вирусных тифекций. Москва-Санкт-Петербургю 2008 91 с.
38. Кельцев В.А., Чурбакова О.В. Взаимосвязь цитокинового профиля и цитолиза у детей с хроническим вирусным гепатитом В. Саратовский научно-медицинский журнал. 2011:7(2):461-465.
39. Крамарев С.А. Современные гепатопротекторы в гепатологии. // Здоровья Украины 2009, nr.1, c.5-9//.
40. Куценко С.А. Основы токсикологии. Санкт-Петербург. 2002. 360с.
41. Лобзин Ю.В., Горячева Л.Г., Рогозина Н.В. и др. Новые возможности диагностики и перспективы лечения поражений печени у детей. Журнал инфектологии. 2010;2(2):6-13.

42. Малый В.П., Гололобова О.В. Особенности функционирования иммунной системы при хроническом гепатите С. Международный медицинский журнал. 2007; 2:58-62.
43. Морозов С.В., Кучерявый Ю.А. Гепатопротекторы в клинической практике: рациональные аспекты использования (пособие для врячей). М. 2011, 30 с.
44. Николенко О.Ю., Якуюенко Е.Д., Николенко В.Ю. и др. Связь диеновых конъюгатов с отдельными показателями иммунитета у больных хроническим вирусным гепатитом С. Bulletin of the International Scientific Surgical Association. 2008; 3(1):82-83.
45. Новиков В.Е., Климкина Е.И. Возможности фармакологической протекции функций печени. //Вестник Смоленской медицинской Академии. 2005, nr.3, с.36-53.
46. Оковитый С.В., Шуленин С.Н. Клиническая фармакология гепатопротекторов. 2006, 80с.
47. Плахтий Л.Я., Нагоев Б.С., Отараева Б.И. и др. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита у болных хроническим вирусным гепатитом С. Успехи современного естествознания. 2010; 9:141.143.
48. Полунина Т.Е., Маев И.В. Место гепатопротекторов в практике интерниста. //Consilium Medicum, Гастроэнтерология, 2010, nr. 1, с-95 – 101//.
49. Редькин Ю.В., Дронь Е.В. Иммунный и цитокиновый статус у больных хроническим вирусным гепатитом С при использовании противовирусного средства Панавир и иммуномодулятора Галавит. Цитокины и воспаление. 2007; 6(1):40-45.
50. Скляр Л.Ф., Никифоров Н.Д., Маркелова Е.В. и др. Системный и локальный цитокиновый профиль при хроническом гепатите С. Клиническая лабораторная диагностика. 2005;12:42-44.
51. Ткач С.М. Эффективность и безопасность гепатопротекторов с точки зрения доказательной медицины. // Здоровья Украины 2009, nr.6/1, с.7-10.
52. Черныш С.И.: Аллокины (цитокиноподобные пептиды насекомых) как модуляторы иммунного ответа человека и других млекопитающих. Russian Journal of Immunology, 2004, v.9, s.1, 36.

# Capitolul V
# HEPATOPROTECTOARE ENTOMOLOGICE – ABORDĂRI ŞI SUGESTII

Insectele au un ciclu de morfogeneză specific şi foarte complicat care include 4 etape de dezvoltare: ou, larvă, pupă şi adult (imago).

Studiului preclinic şi clinic au fost supuse 3 extracte (produse biologic active), obţinute de către Centrul Ştiinţific Aplicativ „Insect-Farm" S.A. (România) din ţesuturile de insecte din ordinul *Lepidoptere*, genul *Lymantria* la etapa de ou (entoheptin), pupă (imupurin) sau din ou şi pupă în raport 25%:75% (imuheptin).

Preparatele respective s-au obţinut conform unor tehnologii originale brevetate, care includ următoarele etape: creşterea specială a insectelor în laboratoarele entomologice pe medii artificiale; extragerea produselor biologic active din ţesuturile diferitor stadii (ou, pupe, larve etc.) de dezvoltare a insectelor; eliminarea apei din extractele obţinute până la 5-6% umiditate prin atomizare.

**Obţinerea fracţiilor**. Pupele şi ouăle acestor insecte au fost mărunţite cu un mojar de tipul PV-50, la o viteză de 5000 rot/min, timp de 15 minute, până la formarea unei paste de culoare gri deschis. Maceratul s-a filtrat printr-o pânză de evelină cu 200 de orificii/1cm$^2$. Suspensia s-a filtrat în gradient de zahăr cu densitatea de 20-40-60-80 / 12000 rot/min (viteza), timp de 30 minute, iar fracţiile obţinute s-au separat şi s-au analizat separat. Analizele spectrale s-au efectuat după dizolvarea PBA în apă, acetonă, benzen şi eter.

Componenţa chimică a acestor produse a fost studiată atât pentru extractul natural, cât şi pentru diverse fracţiuni, obţinute din el.

La fiecare etapă de dezvoltare a insectei se schimbă nu numai forma, dar şi compoziţia chimică. La anumite faze de dezvoltare, extratele după extragerea apei conţine până la 78% proteine, 12% lipide şi 2-3% zahăr.

În ceea ce priveşte conţinutul biochimic, la stadiul de ***ou*** predomină substanţele de natură proteică, de ***larvă*** - lipoproteinele, de ***pupă*** - proteinele, iar de ***adult (imago)*** -cheratinele.

Pentru extragerea complexului lipoproteic este necesar să se cunoască stadiul de dezvoltare al insectei şi ţesutul în care se acumulează acesta. Amprentele spectrale ale extractelor de insecte în apă prezintă 2 maxime: unul în zona lungimilor de undă de 300 nm, cu o intensitate mai mare de 2 Abs, şi unul în zona lungimilor de undă 280 nm cu o intensitate de 0,3 Abs. Dacă substanţele biologic active se extrag în benzen, amprenta spectrală capătă complet un alt aspect. În domeniul 150-250 nm apar o mulţime de vibraţii cu diferite intensităţi, iar în zona de 250-300 nm apare un maxim care ajunge la 0,4 Abs după ce curba scade abrupt. Produsele biologic active extrase în mediul acid (HCl 10%) prezintă o amprentă spectrală cu un maxim de intensitate de 4 Abs în zona lungimilor de undă de 200-250 nm şi un maxim mai mic în zona lungimilor de undă 280-300 nm. Acelaşi complex lipoproteic extras în alcool produce un alt tip de amprentă: intensitatea cea mai mare apare în zona de 250 nm cu o variaţie puternică, ceea ce indică prezenţa unui complex de substanţe biologic active. Cea mai mare variaţie a curbei apare după dizolvare în acetonă. În mediu alcalin amprenta spectrală apare mult mai variată. Curba formează un maxim larg şi variat care cuprinde domeniul 200-300 nm. Amprenta spectrală obţinută din extractul din ţesuturile chitinoase demonstrează prezenţa substanţelor biologic active localizate în zona lungimilor de undă de 200-250 nm cu un maxim mai mic în zona de 280 nm. După delipidizarea cu acetonă a extractelor apare un singur maxim în zona 200-280 nm, fără variaţii (Ciuhrii M., 2006).

S-au efectuat analize cantitative ale produselor biologic active extrase la diferite etape de dezvoltare ale insectelor (ou, larvă, pupă şi imago). Analizele au fost efectuate după aceleaşi principii, pentru a fi posibilă comparaţia rezultatelor obţinute. În tabelul 5.1 sunt prezentate rezultatele cantitative ale conţinutului de proteine, lipide şi zahăr în larve, pupe, imago (adulţi) şi ouă, la reprezentanţii Lepidopterelor, Dipterelor şi Coleopterelor, un reprezentant al mamiferelor (ouă de prepeliţă) şi unul din lumea vegetală (*Aloe vera*). Cei din urmă sunt pe larg folosiţi în medicină (Ciuhrii M., 1999, 2002).

O cantitate mai semnificativă de proteine se găseşte în larvele de Lepidoptere, până la 73,17 g/100g, în pupe şi în ou se conţine aproximativ aceiaşi cantitate. În componenţa fluturelui proteina este mult mai puţină, iar în substanţa protectoare (materialul care inglobează ouăle depuse de fluturi) proteine sunt destul de multe, însă lipsesc complet lipidele.

Compoziţia frunzelor de Aloe diferă de cea a insectelor, atât după conţinutul de proteine, cât şi după cel de lipide (tab.5.1).

*Tabelul 5.1*

**Analize cantitative ale substanţelor biologic active extrase din ţesuturile diferitor stadii de dezvoltare ale Lepidopterelor (L), Coleopterelor (C) şi Dipterelor (D).**

| SBA extrase din insecte | Subst.anţă uscată | Proteine g/100g | Lipide g/100g | Zahăr g/100g |
|---|---|---|---|---|
| **Ou L** | 91,27 | 66,26 | 16,91 | 2,380 |
| **Larva L** | 90,27 | 73,17 | 11,78 | 0,556 |
| **Pupa L** | 93,19 | 66,36 | 23,50 | 8,870 |
| **Imago L** | 91,48 | 55,93 | 9,02 | - |
| **Subst. protectoare** | 88,28 | 66,84 | - | 2,200 |
| **Larva C** | 96,58 | 48,48 | 20,39 | 4,60 |
| **Imago C** | 90,36 | 65,20 | 6,57 | 4,200 |
| **Larva D** | 94,10 | 53,21 | 22,22 | 4,280 |
| **Imago D** | 95,00 | 44,67 | 38,62 | 2,060 |
| **Ou de prepeliţă** | 96,92 | 43,14 | 29,50 | 2,060 |
| **Aloe** | 94,89 | 12,45 | 8,40 | 5,400 |

Conform datelor obţinute, în procesul de dezvoltare conţinutul de proteine şi de lipide din insecte se schimbă şi se transformă atât cantitativ, cât şi calitativ, primul loc fiind ocupat de proteine (la toate stadiile), iar cel de-al doilea de lipide.

Rezultatele testării celor 3 extracte (produse biologic active) au demonstrat următoarea componenţă chimică (tab.5.2):

*Tabelul 5.2*

**Compoziţia chimică a produselor biologic active (entoheptin, imuheptin, imupurin) din ţesuturile de Lepidoptere**

| Parametrii | Produsul biologic activ | | |
|---|---|---|---|
| | Entoheptin | Imuheptin | Imupurin |
| Proteine (g/l) | 52,0 | 28,0 | 21,0 |
| Lipide (mg/g) | 320 | 131,5 | 121,5 |
| Colesterol (mg/g) | 1,2 | 0,1 | 0,08 |
| Trigliceride (mg/g) | 102,5 | 91,8 | 89,4 |
| Amilaza (UI/g) | 59,1 | 65,7 | 13,5 |
| Lipaza (mUI/g) | 30 | 80 | 110 |
| Antioxidanţi hidrosolubili (g/kg) | 9,048 | 11,53 | 11,54 |

*Tabelul 5.3.*

**Conţinutul calitativ şi cantitativ al aminoacizilor în produsele biologic active (entoheptin, imuheptin, imupurin) (mg/100mg):**

| **Aminoacizii** | **Entoheptin** | **Imuheptin** | **Imupurin** |
|---|---|---|---|
| Acid asparagic | 3.7600 | 4.8654 | 5.2339 |
| **Treonină** | **1.5034** | **2.4291** | **2.7378** |
| Serină | 1.4694 | 1.7656 | 1.8645 |
| Acid glutamic | 5.1194 | 6.4128 | 6.8441 |
| Prolină | 1.7173 | 2.6409 | 2.9489 |
| Cisteină | 1.4021 | 1.4242 | 1.4317 |
| Glicină | 1.6783 | 2.1179 | 2.2646 |
| Alanină | 1.6476 | 2.5638 | 2.9693 |
| **Valină** | **1.3353** | **2.2382** | **2.5392** |
| **Metionină** | **0.4901** | **0.2687** | **0.1949** |
| **Izoleucină** | **1.3679** | **2.0239** | **2.2427** |
| **Leucină** | **1.9852** | **2.9554** | **3.2788** |
| Tirozină | 1.5905 | 2.6808 | 3.0443 |
| **Fenilalanină** | **4.0960** | **7.363** | **8.4520** |
| **Histidină** | **0.7521** | **1.2554** | **1.4232** |
| **Lizină** | **2.9281** | **3.6859** | **3.9386** |
| Acid γ-aminobutiric | 0.8533 | 0.9108 | 0.9300 |
| **Arginină** | **1.9171** | **2.4314** | **2.6030** |
| **Triptofan** | **1.7402** | **0.9183** | **0.6445** |
| **Total** | **37.3533** | **50.9525** | **55.4857** |

Analizele spectrale ale proteinelor obţinute au fost efectuate cu ajutorul analizatorului de acizi aminici de tip Tesla – 500. Conform datelor din tabelul 5.3, produsele respective includ întregul set de aminoacizi (19) esenţiali (care nu se sintetizează în organism - treonină, metionină, valină, izoleucină, leucină, fenilalanină, histidină, lizină, arginină, triptofan) şi non-esenţiali (ce se sintetizează în organism - acid asparagic, serină, acid glutamic, prolină, cisteină, glicină, alanină, tirozină). Astfel, entoheptinul conţine 18,1134 mg/100 mg de aminoacizi esenţiali (48,4%), imuheptinul 25,6693 mg/100mg (50,3%), iar imupurinul 28,0547 m/100mg (50,5%).

Analizele proteinelor au demonstrat predominarea următorilor aminoacizi: fenilalanina, acidul glutamic, lizina, leucina, acidul asparagic şi arginină. E necesar de menţionat prezenţa importantă a aminoacizilor cu catenă laterală dezvoltată – leucină, izoleucină, valină. Reieşind din datele obţinute, entoheptinul conţine 4,69 mg/100mg de astfel de aminoacizi, imuheptinul – 9,46 mg/100 mg, imupurinul 8 mg/100 mg. Importanţă pot avea şi aminoacizii aromatici (esenţiali - fenilalanina, triptofan şi non-esenţiali - tirozina,), care se conţin în cantităţi considerabile în preparatele entomologice cercetate (entoheptin – 7,43 mg/100 mg, imuheptin - 10,46 mg/100 mg, imupurin – 12,14 mg/100 mg).

**Efectul hepatoprotector al preparatelor entomologice** poate fi determinat de componenţii preparatului: proteine, lipoproteinne, lipide, aminoacizi, antioxidanţi hidrosolubili.

**Proteinele** sub formă nativă, oligopeptide sau aminoacizi, pot manifesta efect hepatoprotector. Din viermele-de-mătasă (*Bombyx mori L.*) s-a purificat o proteină (35 kda), care în studiile *in vitro* şi *in vivo* a manifestat proprietăţi antioxidante (captarea radicalilor liberi, anionului superoxid) şi hepatoprotectoare (hepatita produsă de $CCl_4$) prin reducerea stresului oxidativ produs de hepatotoxic (Raghavendra R.et al., 2010). Se estimează că un şir de proteine din viermele-de-mătase pot manifesta acţiune antivirală faţă de virusul HIV, virusul herpes simplex tip 1 şi virusul *Polyherosis* nuclear (Raghavendra R.et al., 2010).

Din pupele mai multor tipuri de viermi de mătase s-a separat sericina, care a demonstrat proprietăţi antioxidante prin capacitatea de a capta radicalii liberi, dar care era mai mică ca la vitamina E şi C. În acelaşi timp, uleiurile extrase din pupă au manifestat o activitate antioxidantă mai mare decât acidul linoleic. Sericina şi uleiurile au relevat o activitate tirozinchinazică inhibitoare, care ceda acidului ascorbic (Manosroi A.et al., 2010).

Printr-o selecţie experimentală a mai multor generaţii de *Drosophila melanogaster* s-a obţinut o specie cu o tolerabilitate înaltă faţă de stresul oxidativ, la care s-au identificat un şir de peptide cu acţiune antimicrobiană (cecropine, diptericine etc.), iar unele din ele (diptericine) au demonstrat acţiune antioxidantă prin creşterea activităţii enzimelor antioxidante şi micşorarea formării speciilor reactive ale oxigenului, creşterea nivelului GSH (Zhao H.W.et al., 2011).

La un şir de insecte (*Drosophila, Anapheles, Apis* etc.) s-a detectat hemoglobina intracelulară (prezentă în corpul adipos şi sistemul traheal) şi extracelulară (în hemolimfă), care asigură adaptarea la condiţiile de hipoxie (Burmester T., Hanken T., 2007).

Studiul actual al fiziologiei insectelor e posibil prin analiza cantitativă a hormonilor şi enzimelor acestora, ce permit a depista unele particularităţi la anumite etape de dezvoltare. Prin variate metode biochimice la insecte s-au depistat ecdisteroizi, amine biologice (dopamina, octopamina), tirozina (predecesorul aminelor biogene) şi enzime (esteraze nespecifice, GST, N-acetiltransferaze, fenoloxidaze, acetilcolinesteraze, catalaze, SOD, proteinaze, fosfataze etc.) (Алексеев А.А.и др., 2011).

*Lymantria dispar* este un fitofag ce se alimentează cu o gamă foarte variată de plante (peste 200) din care considerente în procesul de evoluţie se poate determina o corelaţie în apariţia unor specii variate de sisteme enzimatice ce asigură supravieţuirea în condiţiile mediului ambiant. În ontogeneză, la *Lymantria dispar* au loc modificări cantitative şi calitative ale fracţiilor proteice hidrosolubile. Astfel, la stadiul de larvă se constată o majorarea a numărului de fracţii proteice (de la 14 la 17) la larvele de generaţia III cu micşorarea la cele de ultima generaţie (până la 11), cu apariţia unor fracţii noi şi dispariţia celor vechi (Симчук А.П.и др., 2003).

La larvele de *Lymantria dispar* s-au determinat un şir de esteraze nespecifice şi specifice, care au importanţă în procesul de ontogeneză. Aceste enzime asigură: catabolismul esterilor acizilor graşi superiori; mobilizarea lipidelor şi inclusiv, a lipidelor din corpul galben; degradarea esteriilor inerţi metabolic; sinteza şi, parţial, transportul substratelor cuticulare; controlul titrurilor hormonilor (inclusiv, juvenil). Se consideră, de asemenea, că la insectele fitofage esterazele nespecifice au funcţia de detoxicare a compuşilor fenolici, manifestată prin corelaţia dintre activitatea eesterazelor nespecifice şi nivelul acestora în frunze. Concomitent, s-a demonstrat apariţia unor fracţii noi ale esterazelor, ce prezintă o reacţie adaptivă a insectelor la modificarea conţinutului metaboliţilor secundari în procesul de vegetaţie la plante (Симчук А.П.и др., 2003).

Fosfatazele, enzime specifice ce hidrolizează legăturile fosfoeterice, suferă o modificare mai puţin relevantă ca fracţiile proteice. Fosfataza alcalină joacă un rol important metabolic la prima generaţie de larve *Lymantria dispar* (după ieşirea imediată din ou) şi la cele de generaţia a VI-a (înainte de stadiul de pupă, apoi şi imago). Acestea, posibil, sunt determinate de restructurarea radicală a sistemelor metabolice în aceste perioade critice de dezvoltare a insectelor (Симчук А.П.и др., 2003).

**Lipidele.** Din pupele viermelui-de-mătase s-au obţinut uleiuri ce au demonstrat o activitate antioxidantă mai mare decât acidul linoleic (Manosroi A.et al., 2010). Produsele din insecte pot conţine fosfolipide esenţiale pentru restabilirea integrităţii membranelor celulare cu asigurarea efectului membranostabilizator. Complexele lipoproteice pot fi responsabile de acţiunea imunomodulatoare (activarea fagocitozei, ameliorarea imunităţii celulare, statusului interferonilor endogeni), efecte constatate şi la imunostimulatoarele de origine microbiană, fungică etc.

**Antioxidanţii.** Insectele, ca şi alte vietăţi, utilizează oxigenul şi, respectiv, în organismul lor se pot forma specii reactive ale oxigenului (SRO), care necesită a fi neutralizate de antioxidanţi. Se consideră că insectele pot fi, într-o măsură mai mare, supuse riscului stresului oxidativ ca urmare a faptului că: oxigenul se distribuie prin difuzie nemijlocit ţesuturilor; insectele zburătoare au o necesitate foarte mare în oxigen; insectele fitofage se alimentează cu hrană bogată în prooxidanţi; în pocesul de evoluţie, pentru lupta cu agenţii patogeni produc o serie largă de SRO, care pot leza ţesuturile normale. Aceste momente presupun că la insecte sistemul antioxidant trebuie să ocupe un loc central în metabolism. Aceste vietăţi, la diferite etape ale ontogenezei, se deosebesc esenţial după modul de viaţă şi particularităţile metamorfozei (Гулевский А.К.и др., 2006).

Insectele, ca şi alte animale, au un complex de enzime antioxidante şi detoxicante pentru eliminarea SRO. Se disting un şir de componenţi importanţi – enzime antioxidante (SOD, catalaza, GST, peroxidaze etc.) şi antioxidanţi neenzimatici (compuşi fenolici, alfa-tocoferol, acid ascorbic, tioli cu masă moleculară mare şi mică). Enzimele antioxidante se caracterizează prin specificitate (SOD neutralizează anionul superoxid, catalaza – peroxidul de hidrogen, GST – protejează de xenobiotice şi POL prin restabilirea lor cu participarea GSH). Concomitent s-a constatat că la majoritatea insectelor, în procesele de eliminarea şi/sau incapsulare a paraziţilor şi corpilor străini, hemocitele formează un şir de SRO, inclusiv şi cu participarea enzimelor antioxidante (SOD, catalaza). În acelaşi timp, în hemolimfă prin prezenţa preponderentă a antioxidanţilor non-enzimaţici are loc menţinerea echilibrului proceselor de oxido-reducerea cu limitarea afectării ţesuturilor proprii (Дубровский И.М. и др., 2010).

Studiile experimentale au demonstrat că la diferite etape de dezvoltare activitatea enzimelor antioxidante are unele particularităţi în funcţie de specia insectelor. Astfel, la *Tenebrio molitor* (Coleoptere) activitatea SOD creşte treptat de la larve la pupe şi atinge maximul la imago (*adult*), ceea ce este în concordanţă cu majorarea utilizării oxigenului şi, respectiv, formării SRO. În acelaşi timp, la *Musca domestica* activitatea enzimei respective practic nu se modifică pe parcursul ontogenezei, iar la *Drosophila* (de la ou la imago) – are un caracte tip-U (Гулевский А.К.и др., 2006).

Un rol deosebit pentru insecte are catalaza, deoarece la ele nu s-a depistat activitatea glutationperoxidazei (GPx) Se-dependente, acest element fiind absent în hrana insectelor. În acest caz, catalaza preia funcţiile GPx, deoarece enzima la insecte s-a determinat nu numai în peroxizomi, ci şi în alte organele, inclusiv nucleu. Catalaza este o enzimă antioxidantă ce se depistează în tractul digestiv. Activitatea enzimei respective la *Tenebrio molitor* diferă de cea a SOD, fiind cea mai mică la stadiul de pupă, ca apoi să revină la adult practic la nivelul larvelor (Гулевский А.К. и др., 2006).

Glutationul se consideră un component important al sistemului antioxidant la *Tenebrio molitor*, fapt relevat prin nivelul practic constant la toate stadiile de dezvoltare. Totuşi, la larvele de ultimele generaţii se constata o creştere nesemnificativă, care se reducea neesenţial la pupe (posibil, se majora utilizarea GSH) cu o majorare la cel de imago (Гулевский А.К.и др., 2006).

Studiul proceselor POL a demonstrat o creştere semnificativă a nivelului conjugaţilor dienici şi cetodienelor la stadiul de pupă, determinat de destrucţia ţesuturilor şi organitelor larvelor. Intensitatea POL la imago scade, deşi nu se ating nivelele de la larve. Analiza activităţii enzimelor antioxidante şi a proceselor POL a demonstrat că fiecare stadiu de dezvoltare se caracterizează prin deplasarea echilibrului de oxido-reducere spre oxidare cu modificări importante ale anumitor parametri ai sistemului antioxidant, îndreptat spre neutralizarea SRO (Гулевский А.К.и др., 2006).

La insectele fitofage s-a relevat capacitatea de asimilare a acidului ascorbic din plante şi importanţa conţinutului vitaminei C în ele pentru folosirea acestora ca nutrient (Goggin F.L. et al., 2010).

Studiul comparativ al statutului oxidativ al unor insecte, inclusiv la stadiul de pupe, a demonstrat prezenţa enzimelor antioxidante (SOD, CAT, GR, GST, GPx, DT-diaforaze), care le asigură supravieţuirea în condiţiile mediului ambiant (Sanz A.et al., 2010). La viermele-de-mătase domestic s-a depistat prezenţa genelor ce determină sinteza unor proteine ce cuplează carotinoizii, care determină culoarea galbenă a coconului şi, posibil, au importanţă în rezistenţa la factorii nefavorabili ai mediului (Niu Y.S.et al., 2010).

**Aminoacizii.** Aminoacizii, fiind elemente structurale ale proteinelor şi altor structuri endogene, au şi o importanţă fiziologică mare. Unii din ei se prezintă în calitate de substanţe neuromediatoare (acidul glutamic, acidul asparagic, glicina, taurina, acidul γ - aminobutiric etc.). Fenilalanina şi tirozina sunt precursori (predecesori) în biosinteza dopaminei, noradrenalinei, adrenalinei; triptofanul – precursor al serotoninei; histidina – al histaminei. Derivaţi ai aminoacizilor sunt enchefalinele, endorfinele, dinorfinele şi alte neuropeptide, precum şi factorii eliberători (rilizing-factorii) ai hipotalamusului, hormonii hipofizei. Unii aminoacizi (acidul glutamic, acidul γ - aminobutiric, metionina, glicina etc.) sunt utilizaţi de sine stătător în calitate de substanţe medicamentoase. Creşte lista medicamntelor noi, sintetizate în baza reziduurilor aminoacizilor (dalargin-fenilalanină, arginină, captopril – prolină).

Aminoacizii şi derivaţii lor se folosesc în medicină, inclusiv în hepatologie, sub formă de preparate medicamentoase propriu-zise (metionina, ademetionina, cisteina, glicina, taurina, glutamina, triptofan), componente ale preparatelor combinate (asparcam, panangina, hepasol, hepasol A, hepasteril etc.) sau peptide (glutargina, glutoxim etc.). Preparatele aminoacizilor sunt utilizate în calitate de substraturi de substituţie, plastice, energetice şi reglatoare, demonstrate pentru un şir de aminoacizi (Климович И.И. и др., 2008, Мараховский Ю.Х., 2009).

Aminoacizii în clinică se studiază în următoarele direcţii: hepatoprotecţie prin acetilcisteină, ademetionină, metionină, arginină, betaină etc.; acţiunea imunomodulatoare a lizinei, argininei în disfuncţia endotelială şi regenerarea ulcerelor pielii; influenţa aminoacizilor cu catenă laterală dezvoltată asupra metabolismului medicamentelor, evoluţiei infecţiilor şi leziunilor; efectele farmacologice ale fenilalaninei şi ademetioninei în depresii, inclusiv la pacienţii cu hepatite virale; efectul benefic al lizinei în infecţia herpetică; utilizarea taurinei în afecţiunile cardiovasculare, hepatice; efectul terapeutic al triptofanului, glutaminei ca remedii de restabilire a potenţialului alimentar; acţiunea membranostabilizatoare a glutaminei, colinei, etanolaminei; detoxicarea organismului prin capacitatea lizinei de a cupla toxinele cu masă moleculară mică (Мараховский Ю.Х., 2009).

**Aminoacizi cu catena laterală dezvoltată** (ACLD – valina, leucina, izoleucina) sunt aminoacizi esenţiali în veriga iniţială a diferitor transformări chimice (transaminarea, dezaminarea şi decarboxilarea aminoacizilor). Astfel, în procesul de transaminare se formează aminoacizi noi, necesari organismului, iar prin dezaminare acizi carboxilici care ulterior se oxidează cu eliberarea energiei. Valina, leucina şi izoleucina exercită un efect modulator asupra unei proteinchinaze (mTOR), determinantă în citoplasmă, care are un rol cheie în asigurarea multor procese biologice – de la proliferare şi angiogeneză, până la autofagie. Acţiunea sa reglatoare se manifestă preponderent prin mecanisme de translare a celulelor, responsabile de sinteza proteinelor (Снеговой А.В.и др., 2007, Шульпекова Ю.О., 2008, Мараховский Ю.Х., 2009, Алмакаева Л.Г., Литвинова Е.В., 2011).

Aminoacizii cu catenă laterală dezvoltată în studii randomizate, multicentrice au demonstrat efecte benefice în tratamentul cirozei hepatice la utilizarea timp de 1-2 ani cu creşterea duratei vieţii şi micşorarea riscului complicaţiilor (cancerului hepatic) la bolnavii cu ciroză compensată (Мараховский Ю.Х., 2009).

Leucina, izoleucina şi valina sunt intens utilizate de ficatul ce activ regenerează datorită catabolismului în reacţiile de transaminare şi dehidrogenare, precum şi se folosesc, prin formarea alaninei, în sinteza ureei în ficat. Aceşti aminoacizi pot limita sinteza alaninei şi gluconeogeneza în ficat şi regla homeostaza glucozei, iar prin ciclul glucozo-alaninic se realizează interacţiunea dintre metabolismul glucidic şi proteic (Климович И.И. и др., 2008).

În patologia hepatică, de rând cu dereglările metabolismului glucidic, lipidic şi proteic, se constată modificări ale spectrului aminoacizilor liberi în plasmă. Permanent şi specific se determină: micşorarea conţinutului aminoacizilor cu catenă laterală dezvoltată; majorarea nivelului aminoacizilor aromatici; creşterea concentraţiei aminoacizilor ce conţin sulf (metionina, cisteina); intensificarea utilizării ACLD cu instalarea disbalanţei aminoacizilor cu creşterea glutamatului în sângele venos şi amoniacului în cel arterial; reducerea proceselor de oxidare, respectiv producerea de energie, iar prin oxidarea ACLD în muşchi şi gluconeogeneza în rinichi organismul se asigură cu circa 30-40% energie (Климович И.И. и др., 2008).

**Arginina.** Arginina, deşi se consideră un aminoacid non-esenţial, ocupă o poziţie intermediară între aminoacizii esenţiali şi non-esenţiali, deoarece în procesle de creştere sau situaţii patologice este majorată necesitatea, iar sinteza nu acoperă necesităţile. Aminoacidul are o importanţă considerabilă în metabolismul plastic şi energetic, precum şi în reglarea proceselor imune şi metabolice. Acţiunea asupra sistemului imun se reflectă prin citotoxicitate nespecifică, protecţie antitumorală, implicaţii în patogeneza toxemiilor, regetul transplantului etc.

Acţiunea hepatoprotectoare a argininei se datorează: micşorării viscozităţii conexiunilor proteo-lipidice; creşterii activităţii citocromului P-450 membranar, ce asigură funcţia detoxicantă a ficatului, inclusiv şi în oxidarea xenobioticelor; menţinerii echilibrului sistemului pro/antioxidant în ischemie/reperfuzia ficatului. În realizarea acestei acţiuni un aport important are şi efectul antioxidant, relevat prin captarea radicalilor liberi, diminuarea POL şi afectării organelor (Алмакаева Л.Г., Литвинова Е.В., 2011).

Arginina este o verigă sinergică a ornitinului pentru neutralizarea amoniacului în hepatocitele periportale, precum şi participă la mobilizarea lipidelor din celule. În cazul deficitului de arginină se dezvoltă hiperamoniemia, hiperglicemia, steatoza hepatică, disproteinemia, pierderi ponderale, retenţia creşterii. În abuzul de alcool arginina endogenă nu poate anihila pierderile de acid orotic, dereglările sintezei acizilor nucleici şi proceselor reparative. În maladiile ficatului este crescută activitatea arginazei cu dezvoltarea deficitului de arginină (Харченко Н.В., Опанасюк Н.Д., 2002, Драгомирецкая Н.В., 2002, Губергриц Н.Б., Лобас Е.В., 2003).

Suplimentarea argininei la şobolanii cu afecţiune hepatică, indusă prin $CCl_4$, a contribuit la normalizarea parametrilor metabolismului proteic (restabilirea nivelului proteinelor şi diminuarea probei timol), lipidic (reducerea trigliceridemiei, colesterolemiei) şi glucidic (micşorarea glicemiei). Concomitent s-au ameliorat parametrii hemostatici (creşterea numărului de trombocite, scurtarea timpului de coagulare şi timpului parţial activat tromboplastinic), manifestările sindromului de citoliză (diminuarea activităţii transaminazelor) şi modificările histologice (limitarea steatozei, inflamaţiei, necrozei şi fibrozei) (Bărăcan A., 2007). Autorul consideră că în afecţiunile induse de $CCl_4$ are loc reducerea activităţii nitroxidsintetazei entoteliale cu diminuarea formării NO ce produce vasoconstricţie sinusoidală. Totodată, SRO şi radicalii liberi (raportul NO/SRO) vor influenţa acţiunile NO, astfel încât captatorii de radicali liberi şi/sau predecesorii NO vor diminua efectele negative ale hepatotoxicului. Tetraclorura de carbon interacţionează cu amino grupele aminelor şi proteinelor cu formarea $CCl_3$ (cu participarea CYP 2E1), care blochează secreţia de lipoproteine şi intensifică peroxidarea lipidelor. Arginina a contribuit la anihilarea efectelor $CCl_4$.

În hepatologie se utilizează un şir de preparate asocieri de aminoacizi (glutargina, citrargina, ornitin-aspartat etc.) ce pot manifesta efect detoxicant, membranostabilizator, antioxidant, hipoamoniemiant, antihipoxic, metabolic etc. (vezi cap. 2).

Glutoximul, un hexapeptid cu legături disulfidice, participă la reglarea redox-complexului de starea căruia depinde activitatea sistemului pro şi antioxidant al celulelor. Preparatul influenţează benefic potenţialul antioxidant în hepatitele virale, iar prin restabilirea nivelului de aminoacizi şi activarea enzimelor, ce menţin echilibrul GSH, compensează deficitul de GSH, ce asigură o inactivare mai efectivă a hidroperoxizilor lipidici ce se formează în membranele celulare (Сафонов А.Д.и др., 2002). Autorii menţionează importanţa menţinerii nivelului GSH la pacienţii cu hepatite virale datorită capacităţii de a capta hidrogenul; restabili activitatea antioxidanţilor endogeni (tocoferoli, acid ascoorbic etc.); reacţiona cu radicalii liberi; intensifica procesele de detoxicare.

Preparatul Neamon-hepa (conţine arginină, BioR – aminoaizi, oligopeptide şi microelemente) în doza de 100 mg/kg a exercitat efect benefic în afecţiunea hepatică indusă prin $CCl_4$, relevat prin micşorarea nivelului bilirubinei totale şi colesterolului total, activităţii transaminazelor, fosfatazei alcaline, LDH. Concomitent s-a constatat o diminuare a nivelului produselor ce interacţionează cu acidul tiobarbituric şi o majorare a activităţii SOD, catalazei şi GPx (Parii B.şi cout., 2010). Autorii consideră că efectul hepatoprotector al preparatului este determinat de componenţii săi. Astfel, prezenţa argininei este responsabilă de stimularea metabolismului celular, metabolismului ureei, reglarea nivelului glucozei, influenţarea modificărilor metabolice ale aminoacizilor mediatori. BioR-ul prin aminoacizi, oligopeptide şi microelemente stimulează procesele regeneratoare ale ţesuturilor şi influenţează pozitiv asupra imunităţii celulare şi umorale.

Includerea ademetioninei în tratamentul complex cu terapia etiotropă (interferon alfa şi ribavirină) al pacienţilor cu hepatită virală cronică C a contribuit la obţinerea unui răspuns virusologic rapid şi precoce la un procent mai mare de bolnavi. Concomitent s-a constatat o reducere a frecvenţei depresiei şi ameliorarea evoluţiei ei la aceşti pacienţi (Бувверов А.О.и др., 2010). Autorii consideră argumentată utilizarea terapiei patogenetice, inclusiv metabolice, în tratamentul complex al pacienţilor cu hepatită virală cronică C datorită amplificării răspunsului virusologic rapid şi precoce şi, ce este mai important, creşterii complianţei bolnavilor la tratamentul etiologic prin diminuarea frecvenţei şi intensităţii reacţiilor adverse al acestuia.

Un anumit rol în realizarea efectului hepatoprotector al preparatelor entomologice îl poate avea influenţa lor asupra funcţiei antitoxice a ficatului prin modificarea activităţii enzimelor citocromului P-450, implicate în inactivarea şi/sau bioactivarea substanţelor hepatotoxice. După cum s-a relatat în capitolul 3, acţiunea hepatotoxică a $CCl_4$ este determinată în mare măsură de capacitatea de formare a radicalilor liberi ($CCl_3$*, Cl*, $CCl_3OO$*) cu participarea izoenzimelor CYP 3A4, CYP 2E1, CYP 1A2 etc. Tetraclorura de carbon, odată cu bioactivarea de către acestea, produce şi supresia citocromului P-450 (CYP 2E1, CYP 3A4, CYP 1A2 etc.), relevată prin creşterea duratei somnului barbituric (Sreevedi C.D.et al., 2009Al-Dosari M.S., 2010, Kumarappan C. et al., 2011, Коломиец Н.Э., 2011).

Studiile experimentale au demonstrat că entoheptinul, administrat timp de 3, 5 şi 7 zile, a determinat o majorarea a duratei somnului indus de hexobarbital, iar fenobarbitalul l-a redus semnificativ (Spinei R., 2007).

Pretratamentul cu preparatele entomologice timp de 7 zile a determinat o creştere a duratei somnului hexobarbituric după administrarea unei doze de $CCl_4$. Posibil, în acest caz are loc o diminuare a activităţii CYP 3A4, preponderent responsabilă de bioactivarea hepatotoxicului cu reducerea formării metaboliţilor toxici. Sub acest aspect, imupurinul a determinat cea mai mare majorare a duratei somnului barbituric, asociată cu anihilarea unor dereglări morfologice în ficat, induse de hepatotoxic. Ipoteza respectivă este susţinută şi de datele care arată că inductorii izoenzimei CYP 3A4 (fenobarbitalul etc.) cresc hepatotoxicitatea $CCl_4$, inclusiv şi prin micşorarea duratei somnului indus de hexobarbital. Influenţa preparatelor entomologice asupra altor izoenzime ale citocromului P-450 (CYP 2E1, CYP 1A2 etc.), reieşind din datele obţinute, nu este importantă, deoarece acestea nu modifică esenţial durata somnului hexobarbituric la administrarea dozelor toxice de paracetamol. Analgezicul a determinat o tendinţă de micşorare a somnului respectiv, posibil, prin stimularea activităţii CYP 2E1, izoenzimă cu un rol secundar în metabolismul barbituricelor. Aceste date sunt susţinute şi de studiile experimentale care au demonstrat capacitatea paracetamolului de a creşte expresia CYP 2E1 (Cheung C.et al., 2005, Ito Y.et al., 2006, Kim S.N.et al., 2007, Kim S.J.et al., 2009). Concomitent, în procesul de inactivare a metaboliţilor toxici (îndeosebi ai paracetamolului – NPQI) se pot implica enzimele fazei II de metabolizare. În acest context este important aportul GSH pentru cuplarea NPQI şi neutralizarea efectului hepatotoxic al acestuia. Preparatele entomologice, prin substraturile necesare pentru sinteza GSH (cisteina, metionina etc.) sau prin conţinutul acestuia, pot determina reducerea hepatotoxicităţii paracetamolului. Aceste sugestii sunt confirmate de preîntâmpinarea dereglărilor morfologice şi a nivelului substanţelor necrotice la utilizarea profilactică a imuheptinului, entoheptinului şi imupurinului. Astfel, rezultatele obţinute şi cele din literatură indică la o posibilă influenţă a preparatelor entomologice asupra activităţii izoenzimelor citocromului P-450 (faza I a metabolismului) şi proceselor de conjugare (faza a II-a a metabolismului), ce pot fi implicate în realizarea efectului hepatoprotector. Cele relatate sugerează necesitatea unor studii farmacocinetice mai profunde pentru argumentarea rolului enzimelor fazei I şi II de metabolizare în realizarea efectului hepatoprotector al preparatelor entomologice.

Analiza rezultatelor experimentale şi clinice obţinute şi a celor din literatură ne permit să considerăm că acţiunea imunomodulatoare a preparatelor entomologice, îndeosebi a imupurinului şi imuheptinului, are o pondere importantă în realizarea efectului hepatoprotector. Beneficiul terapeutic al preparatelor cercetate este determinat de componenţii acestora (complexele lipo-proteice, aminoacizii, polizaharidele şi oligopeptidele), care contribuie la corecţia dereglărilor imunităţii celulare şi umorale (restabilirea raportului dintre Th1/Th2). Acestea din urmă pot contribui la recunoaşterea hepatocitelor afectate cu intensificarea fagocitării şi accelerarea eliminării lor cu dezvoltarea unui efect antiviral indirect.

Acţiunea hepatoprotectoare a preparatelor entomologice este complexă datorită aportului de substraturi energetice şi plastice, intensificării proceselor sintetice şi reparative, diminuării inflamaţiei, menţinerii raportului echilibrului pro - şi antioxidant, corecţiei dereglărilor imunităţii celulare şi umorale, ce vor determina influenţa asupra verigilor patogenetice ale afecţiunilor hepatice de diferită geneză.

## BIBLIOGRAFIA

1. Al-Dosari MS. The effectiveness of ethanolic extract of Amaranthus tricolor L.: A natural hepatoprotective agent. Am J Chin Med. 2010;38(6):1051-64.
2. Bărăcan A. Implicaţiile sistemului L-arginină-oxid nitric în patogeneza dezechilibrelor metabolice din reacţia postagresivă toxică indusă de tetraclorura de carbon. Clujul medical. 2007. LXXX: 394-398.
3. Burmester T, Hankeln T The respiratory proteins of insects. J Insect Physiol. 2007 Apr;53(4):285-94.
4. Cheung C,. et al. The cyp2e1-humanized transgenic mouse: role of cyp2e1 in acetaminophen hepatotoxicity. Drug Metab Dispos. 2005 Mar;33(3):449-57.
5. Ciuhrii M., Vernescu S.: Entomologia la finele secolului XX. Lucrările celui de-al II-lea Congres „Dezvoltarea în pragul milemiului III", Bucureşti, 1999; 560-567.
6. Ciuhrii M.:Terapii complementare noi bazate pe subsanţe biologic active extrase din insecte. Lucrările simpozionului „Priorităţi în dezvoltarea biotehnologiei româneşti", Târgovişte, 12-13 decembrie 2002, 96-103.
7. Ciuhrii M. Fauna în tratarea şi alimentarea omului. Bucureşti 2006.
8. Goggin FL, Avila CA, Lorence A. Vitamin C content in plants is modified by insects and influences susceptibility to herbivory. Bioessays. 2010 Sep;32(9):777-90.
9. Ito Y. et al. Dietary steatotic liver attenuates acetaminophen hepatotoxicity in mice. Microcirculation. 2006 Jan;13(1):19-27.
10. Kamarappan Ch. et al., Protective and curative effects of polyphenolic extracts from Ichnocarpus frutescense leaves on experimental hepatotoxicity by carbon tetrachloride and tamoxifen. Annals of Hepatology. 2011.Jan-March.. 10 (1), p.63-72.
11. Kim SJ. et al. Alteration in metabolism and toxicity of acetaminophen upon repeated administration in rats. J Pharmacol Sci. 2009 Oct;111(2):175-81.
12. Kim SN. et al. Induction of hepatic CYP2E1 by a subtoxic dose of acetaminophen in rats: increase in dichloromethane metabolism and carboxyhemoglobin elevation. Drug Metab Dispos. 2007 Oct;35(10):1754-8.
13. Manosroi A, Boonpisuttinant K, Winitchai S, et al. Free radical scavenging and tyrosinase inhibition activity of oils and sericin extracted from Thai native silkworms (Bombyx mori). Pharm Biol. 2010 Aug;48(8):855-60.
14. Niu YS, Chen YD, Xi J, et al.. [Structure and expression analysis of cbp gene in different natural colored-cocoon strains of Bombyx mori]. Yi Chuan. 2010 Sep;32(9):942-50.
15. Parii B. şi coaut. Efectele protectoare ale remediului autohton neamon-hepa în hepatita indusă cu tetraclorura de carbon. Curierul medical. 2010: 2 (314);31-35.

16. Raghavendra R. et al. Protective effect of partially purified 35 kda protein from silk worm (Bombyx mori) fecal matter against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity and in vitro anti-viral properties. Pharm. Biol.2010 Aug.25.
17. Sanz A, Trenzado CE, López-Rodríguez MJ, et al. .Study of antioxidant defense in four species of Perloidea (Insecta, Plecoptera). Zoolog Sci. 2010 Dec;27(12):952-8.
18. Spinei R. Influenţa entoheptinului asupra funcţiei antitoxice a ficatului. In.: Anale ştiinţifice ale USMF „Nicolae Testemiţanu”. Ediţia VIII-a. Volumul I. Probleme medico – biologice şi farmaceutice. Chişinău 2007. 152-156.
19. Sreedevi CD. et al., Hepatoprotective studies on Sida acuta Burm. f. J Ethnopharmacol. 2009 Jul 15;124(2):171-5. Epub 2009 May 5.
20. Zhao HW, Zhou D, Haddad GG. Antimicrobial peptides increase tolerance to oxidant stress in Drosophila melanogaster. J Biol Chem. 2011 Feb 25;286(8):6211-8.
21. Алексеев А.А. и др. Количественные методы изучения гормонов и ферментов насекомых. Материалы Международной научной конференции «Фундаментальные проблемы энтомологии в XXI веке». Санкт-Петербург. 2011; с.6
22. Алмакаева Л.Г., Литвинова Е.В. Аргинин и его применение в медицине и фармации. Ліки України. 2011; 1(5): 23-27.
23. Буеверов А.О. и др. Гептрал (адеметионин) в комплексной противовирусной терапии хронического гепатита С. Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. 2010: 2; 31-36.
24. Губергриц Н.Б., Лобас Е.В. Патогенетическое обоснование и эффективность цитраргина при лечении сочетанных алкогольных заболеваний печени и поджелудочной железы. Сучастна гастроэнтерлогия. 2003. № 4 (14). С.59-62.
25. Гулевский А.К., Гоищенкова Е.А., Релина Л.И. Антиоксидантная система большого мучного хрущака (*Tenebrio molitor*) в онтогенезе.Укр. биохим. журнал. 2006: 78 (2):86-90.
26. Драгомирецкая Н.В. эффективность применения цитраргина в восстановительном лечении острых токсических и вирусных гепатитов. Сучастна гастроэнтерлогия. 2002. № 3 (9). с.97-99.
27. Дубровский И.М. и др. Генерация активированных кислородных метаболитов и активность антиоксидантов в гемолимфе личинок *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Piralidae) при развитии процесса инкапсуляции. Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2010: 46(1): 30-36.
28. Климович И.И., Дорошенко Е.М., Страпко В.П., Симрнов В.Ю. Использование препаратов аминокислот при лечении заболеваний желчевыводящих путей (обзор). Журнал Гродненского Медицинского Университета. 2008. 1: 14-21.
29. Коломиец Н. Э. и др. Гепатопротекторные свойства хвощей. Фармация, 2011, № 7, С. 46-48.
30. Мараховский Ю.Х. Аминокислоты как лекарственные средства: от научных достижений к клинической практике. Материалы 3-й международной научной конференции. Минск. 23-24 июня 2009. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2009: 4-9
31. Сафонов А.Д., Руденко С.А., Конвай В.Д., Высогорский В.Е. Терапевтическая эффективность препарата «глутоксим» при лечении вирусных гепатитовю Актуальные вопросы базовой и клинической фармакологии. Приложение к журналу «Омский научный вестник». 2002; 18: 131-133.

32. Симчук А.П., Пелецкая И.Г., Оберемок В.В. Изоформы белков, эстераз и щелочной фосфатазы личиночной фазы непарного шелкопряда (*Lymantria dispar L.*). В кн.: «Экосистемы Крыма, их оптимизация и охрана». 2003: с.172-177.
33. Снеговой А.В., Сельчук В.Ю., Манзюк Л.В., и др. Печеночная недостаточность и рациональная нутритивная поддержка. РМЖ. Онкология. 2007;15(25): 1896-1900.
34. Харченко Н.В., Опасанюк Н.Д. Опыт применения цитраргина в лечении пациентов с хроническими заболеваниями печени. Сучастна гастроэнтерлогия. 2002. № 2 (8). с.73-75.
35. Шульпекова Ю.О. Нарушение баланса аминокислот при печеночной недостаточности и его роль в развитии печеночной энцефалопатии Consilium Medicum 2008; 10 (8): с. 29-32..

# РЕЗЮМЕ

Монография «Энтомологические гепатопротекторы» посвящена новому направлению в фармакологии и гепатологии – лечение заболеваний печени препаратами, полученными из тканей насекомых на различных этапах их развития. В работе освещены актуальные вопросы лекарственных и токсических поражений печени, фармакологии гепатопротекторов и их рационального применения на основе доказательной медицины. Основной раздел монографии посвящен экспериментальному изучению гепатопротекторных свойств энтогептина, имугептина и имупурина. На моделях токсического и ишемического повреждения печени изучено профилактическое и лечебное действие энтомологических препаратов с использованием физиологических, биохимических и морфологических параметров, позволяющих адекватно оценить гепатопротекторное действие изученных средств. Проведенные исследования показали высокую эффективность имугептина, имупурина и энтогептина в предупреждении токсического поражения печени, особенно вызванного парацетамолом. Исследуемые препараты оказывали благоприятное влияние на течение токсического и ишемического гепатита, проявляющегося уменьшением явлений цитолиза и холестаза, а также метаболических нарушений.

Проведенные клинические исследования показали эффективность и безопасность энтомологических препаратов в комплексном лечении больных с хроническими гепатитами различной этиологии. Лечение имугептином, имупурином и энтогептином способствовало более быстрому стиханию клинических симптомов, уменьшкнию активности АсАТ, АлАТ, щелочной фосфатазы, гамама-глутамилтранспептидазы, уровню билирубина и тимоловой пробы, коррекции метаболических и иммунных нарушений, а также восстановлении равновесия про и антиоксидантного статуса. Энтомологические препараты рассматриваются как средства, способствующие коррекции патогенетических нарушений при хронических гепатитах, а также в качестве альтернативных препаратов при противопоказаниях к специфической противовирусной ткрапии и/или при возникновении к ней тяжелых побочных эффектов.

**Ключевые слова: энтомологические препараты, энтогептин, имугептин, имупурин, токсические и ишемические поражения печени, хронический гепатит, гепатопротекторное действие.**

# SUMMARY

The monograph "Entomologic hepatoprotectors" is dedicated to the new direction in pharmacology and hepatology – the treatment of hepatic diseases with the drugs obtained from insects tissues at the different stapes of development. In the study is elucidated the actual problems of the medicamentous and toxic hepatic conditions and their rational usage in terms of the evidence-***based medicine.*** The main compartment is dedicated to the experimental study of hepatoprotective properties of entoheptin, imuheptin, and imupurin. On the model of toxic and ischemic liver conditions it was studied the prophylactic and therapeutic action of entomologc drugs, through the usage of physiological, biochemical, and morphological parameters that allow to appreciate adequately hepatoprotective action of studied drugs.

Effectuated researches have demonstrated a high efficacy of imuheptin, imupurin, and entoheptin in the prevention of toxic conditions, preliminary for paracetamol's. The studied drugs have influenced beneficially on the evolution of toxic and ischemic hepatic lesions, showed through diminishing of cytolytic, and cholestatic syndromes, as well as metabolic deregulations. Clinical studies have demonstrated the efficacy and safety of entomologic drugs in complex treatment of the patients with chronic hepatitis of various etiology. Treatment with imuheptin, imupurin, and entoheptin contributed to rapid amelioration of the clinical symptoms, to the decreasing of the AlAT, AsAT, alchaline phosphates, gamma – glutamyltranspeptidase activity, of the level of bilirubin and thymol probe, to the correction of metabolic and immune deregulations, as well as to the recovery of the pro and anti oxidant status equilibrium.

Entomological preparations are considered drugs that contribute to correction of pathogenetic disorders in chronic hepatitis, as well as alternative drugs in case of contraindication to specific antiviral therapy, and/or in case of appearing of some sever adverse effects.

**Key words: entomological drugs, entoheptin, imuheptin, imupurin, toxic and ischemic hepatic conditions, chronic hepatitis, hepatoprotective action.**